



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**  
**Universidad del Perú. Decana de América**  
**Facultad de Medicina Veterinaria**  
**Escuela Académico Profesional de Medicina Veterinaria**

**Efecto del sitio de deposición del plasma seminal sobre  
la tasa de ovulación y formación del cuerpo lúteo en  
alpacas**

**TESIS**

Para optar el Título Profesional de Médica Veterinaria

**AUTOR**

Susan Elvira PANEZ LÓPEZ

**ASESORES**

Víctor LEYVA VALLEJOS

Milder AYLLÓN SARMIENTO

Lima, Perú

2007



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

## **Referencia bibliográfica**

---

Panez S. Efecto del sitio de deposición del plasma seminal sobre la tasa de ovulación y formación del cuerpo lúteo en alpacas [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Escuela Profesional de Medicina Veterinaria; 2007.

---



**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**  
(Universidad del Perú, DECANA DE AMERICA)  
**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA**  
**ESCUELA ACADÉMICO-PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA**



**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL  
TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO**

En el auditorio principal de la Facultad de Medicina Veterinaria, el día **Miércoles 28 de Febrero del 2007**, a las **10:00** horas, se constituyó el Jurado Examinador designado mediante Resolución Directoral **N.º017-EAPMV/FMV-2007**, integrado por los siguientes profesores:

FRANCISCO SUÁREZ ARANDA,  
WILFREDO HUANCA LÓPEZ,  
JOSÉ CAMACHO SALCEDO,  
ALEXEI SANTIANI ACOSTA,

Presidente del Jurado.  
Director de la Tesis  
Miembro del Jurado  
Miembro del Jurado

Luego de la instalación del Jurado, a cargo del Presidente del Jurado y bajo la dirección del mismo, la Bachiller Doña: **Susan Elvira Panéz López**, para optar el Título Profesional de Médico Veterinario, procedió a sustentar públicamente la Tesis:

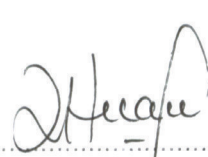
**“EFECTO DEL SITIO DE DEPOSICIÓN DEL PLASMA SEMINAL SOBRE LA  
TASA DE OVULACIÓN Y FORMACIÓN DE CUERPO LÚTEO EN  
ALPACAS”**


Luego de absolver las preguntas del Jurado y del público asistente, el Jurado deliberó con la abstención reglamentaria de la Directora de Tesis y acordó su **APROBACIÓN** por **UNANIMIDAD**, otorgándole la nota de **DIECISIETE (17)**.

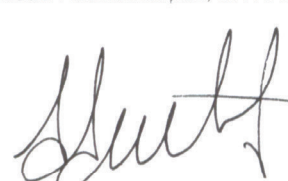
Habiéndose aprobado la sustentación pública de la Tesis, el Presidente en representación del Jurado recomienda que la Escuela Académico Profesional de Medicina Veterinaria proponga la aprobación del **TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO** a la Facultad de Medicina Veterinaria y que ésta proponga al Rectorado el otorgamiento respectivo.

Siendo las **11:02 horas**, concluyó el acto académico de sustentación pública de Tesis en fe de lo cual suscriben la presente acta por cuadruplicado los integrantes del Jurado:

  
Francisco Suárez Aranda; PhD. Prof. Principal, D.E.

  
Wilfredo Huanca López; MV. Prof. Asociado. D.E.

  
José Camacho Salcedo; M.V. Prof. Asociado, T.C

  
Alexei Santiani Acosta; Mg. Prof. Auxiliar, D.E.



**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**

*Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA*

**Facultad de Medicina  
Veterinaria**

**ESCUELA ACADÉMICO-PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA**

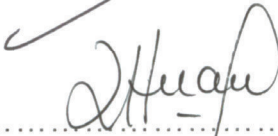
*Trabajo sustentado y aprobado ante el Jurado designado por la Escuela Académico Profesional de Medicina Veterinaria mediante Resolución Directoral:*

N.º 017-EAPMV/FMV-2007.

**PRESIDENTE :**

  
FRANCISCO SUÁREZ ARANDA

**MIEMBROS :**

  
WILFREDO HUANCA LÓPEZ  
Director de la Tesis

  
JOSE CAMACHO SALCEDO

  
ALEXEI SANTIANI ACOSTA

San Borja, 28 de Febrero del 2007

**Vº B.**

  
DR. ARMANDO GONZÁLEZ ZARIQUEY  
Director de la Escuela Académico Profesional de  
Medicina Veterinaria



## DEDICATORIA

*A Juan, mi queridísimo papá, por brindarme siempre tu amor, comprensión y apoyo incondicional desde los inicios de mi vida, ahora y siempre, por ser mi papá paciente y tolerante cuando corriges mi errores y muy sabio cuando me ayudas a seguir adelante, enseñándome a valorar las diversas situaciones en la vida y sobretodo a comprender mi rol fundamental como persona.*

*A Lupe, mi queridísima mamá, por brindarme todo tu amor, preocupación, dedicación y cariño ahora y siempre, por haberme enseñado mucho y corregido siempre, dándome en todo momento el ejemplo vivo de la fuerza con que se ama y qué mejor demostración que tus enseñanzas y accionar exigente como mi mamá. Gracias por confiar en la profesión que con todo entusiasmo y convencimiento decidí para mí. Gracias por tu respeto.*

*A Francisco, Juan José, Gerardo y Catherine, mis adorados hermanitos, por estar siempre a mi lado y compartir tantos momentos juntos alegres y algunos enfadados pero siempre sobresaliendo el cariño de hermanos. Gracias por sus opiniones o críticas aunque algunas duras pero la mayoría de veces ciertas, por sus abrazos y palabras de ánimos para seguir avanzando con mis metas y cada vez que se van logrando, ustedes junto a mi siempre lo celebran.*

## AGRADECIMIENTOS

*Al doctor Wilfredo Huanca López, por su amistad, comprensión, dedicación y respeto, por su franqueza cuando yo he tenido algunas inquietudes, por sus consejos y preocupación de padre y por la oportunidad de haberme brindado su dirección para la realización de mi tesis.*

*A mis asesores, los doctores Víctor Leyva Vallejos y Milder Ayllón Sarmiento por su orientación y sugerencias para la presentación de mi tesis.*

*A la Universidad Nacional Mayor de San Marcos  
y la Facultad de Medicina Veterinaria por acogerme en  
sus aulas y darme la oportunidad de formarme  
académicamente.*



*Al Proyecto Nacional de Investigación en Camélidos Sudamericanos (PNIC) con sede en la EE ILLPA – INIA – Puno que se desarrolla en el Centro de Investigación y Producción (CIP) Quimsachata por su contribución en la realización del presente trabajo.*

*Al doctor Teodosio Huanca Mamani, jefe del PNIC, mi agradecimiento especial por su amistad y preocupación de brindarme siempre todas las facilidades para el desarrollo experimental de mi trabajo en las instalaciones del CIP Quimsachata.*

*Al equipo de profesionales que laboran en el CIP Quimsachata: doctores Rómulo Sapaná, Óscar Cárdenas, Nolberto Apaza, Ing. Daniel Melo y todo el personal técnico.*

*A mis compañeros y amigos con quiénes compartí momentos interesantes, alegres, y algunos momentos de cansancio o estrés pero siempre con la satisfacción de haber participado en la realización de los proyectos de investigación en camélidos sudamericanos en el CIP Quimsachata: Alicia, Martita, Miriam, Shirley, Sofía, Manuel, Marco, Edgar y Omar.*

*A mis amigos: los doctores John Guzmán y Carlos Angulo por su apoyo, esfuerzo, tiempo y sobretodo mucha paciencia en el desarrollo del aspecto estadístico de mi tesis.*

## CONTENIDO

	<b>RESUMEN</b>	xii
	<b>SUMMARY</b>	xiii
	<b>LISTA DE CUADROS</b>	xiv
	<b>LISTA DE FIGURAS</b>	xv
	<b>ANEXO</b>	xvi
		Pág.
<b>I</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>II</b>	<b>ANTECEDENTES</b>	3
<b>2.1.</b>	<b>Fisiología Reproductiva de la alpaca hembra</b>	3
2.1.1	Endocrinología reproductiva	3
2.1.2.	Pubertad	6
2.1.3.	Estacionalidad y comportamiento sexual	7
2.1.4.	Ovulación	9
2.1.4.1.	Características de ovulación en alpacas	10
2.1.4.2.	Métodos artificiales de inducción de ovulación	13
2.1.5.	Cuerpo Lúteo	14
2.1.6.	Dinámica folicular en camélidos sudamericanos	18
2.1.7.	Métodos de diagnóstico en reproducción de camélidos	21
2.1.7.1.	Diagnóstico por conducta sexual	21
2.1.7.2.	Diagnóstico por ecografía	22
<b>2.2.</b>	<b>Fisiología Reproductiva de la alpaca macho</b>	24
2.2.1.	Endocrinología reproductiva	24
2.2.2.	Pubertad	26
2.2.3.	Comportamiento sexual	27
2.2.4.	Características del semen de camélidos	29
2.2.5.	Plasma seminal	29
2.2.5.1.	Bioquímica del plasma seminal	29
2.2.5.2.	Factor Inductor de Ovulación (FIO)	31

<b>III</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>34</b>
3.1.	Lugar del Estudio.....	34
3.2.	Unidades experimentales.....	34
3.3.	Obtención del plasma seminal.....	35
3.4.	Diseño Experimental.....	35
3.5.	Análisis Estadístico.....	39
<b>IV</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>40</b>
<b>V</b>	<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>46</b>
<b>VI</b>	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>52</b>
<b>VII</b>	<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>53</b>
<b>VIII</b>	<b>LITERATURA CITADA.....</b>	<b>54</b>
<b>IX</b>	<b>ANEXO.....</b>	<b>65</b>

## RESUMEN

El presente estudio tuvo por objetivo evaluar el efecto del sitio de deposición del plasma seminal sobre la tasa de ovulación y formación del cuerpo lúteo en alpacas. Se seleccionaron 91 hembras en aparente estado óptimo reproductivo y con presencia de folículos  $\geq 7\text{mm}$  detectados por ecografía transrectal. Todas las hembras recibieron 5mg de LH intramuscular para sincronizar el desarrollo folicular ovárico y 12 días posteriores a la inyección una segunda ecografía se realizó a todas las hembras para detectar el folículo dominante ( $\geq 7\text{mm}$ ) y distribuir las al azar en uno de los 6 grupos experimentales:  $G_1 = 16$  (Administración de plasma seminal vía intramuscular),  $G_2 = 15$  (Administración de PBS vía intramuscular),  $G_3 = 16$  (Administración de plasma seminal vía intrauterina),  $G_4 = 15$  (Administración de PBS vía intrauterina),  $G_5 = 15$  (Administración de plasma seminal vía intrauterina con curetaje),  $G_6 = 14$  (Administración de PBS vía intrauterina con curetaje). Para determinar la tasa de ovulación las hembras fueron ecografiadas el día  $D_2$  ( $D_0$  = Inicio del tratamiento) en base al criterio de desaparición del folículo dominante determinado el  $D_0$  y una última ecografía se realizó el  $D_8$  para detectar cuerpo lúteo. Se tomaron muestras de sangre los días  $D_0$ ,  $D_3$  y  $D_9$  para determinación de progesterona sérica mediante RIA. La tasa de ovulación fue:  $G_1 = 93.75\%$ ,  $G_3 = 37.5\%$ ,  $G_5 = 66.5\%$ , mientras que en  $G_2$ ,  $G_4$  y  $G_6$  ninguna hembra ovuló al recibir PBS (0%). Se encontró que  $G_1$  y  $G_5$  producirán 25 y 3.33 veces más ovulaciones con respecto al  $G_3$ , respectivamente; sin embargo el único grupo con significancia estadística fue el  $G_1$ . Los resultados del presente estudio permiten sugerir que la absorción del factor inductor de ovulación (FIO) del plasma seminal es vía sistémica, como lo demuestra la administración intramuscular y que los diferentes grados de absorción del FIO con la administración intrauterina sin curetaje e intrauterina con curetaje sugieren que el sitio probable de su absorción se encuentra a nivel de la mucosa uterina; y el curetaje facilitaría la absorción del FIO incrementando el efecto ovulatorio del plasma seminal.

**Palabras claves:** alpaca, plasma seminal, ovulación inducida, Factor Inductor de Ovulación (FIO)

## SUMMARY

The present study was carried out to evaluate the effect of deposition site of seminal plasma about the ovulation rate and corpus luteum size in alpacas. Ninety one animals with a follicle size  $\geq 7$  mm were selected by ultrasound. Animals received 5 mg of LH by intramuscular injection for follicular wave synchronization and after twelve days were evaluated by ultrasound to determine presence of a dominant follicle  $> 7$ mm and then assigned to one of six experimental groups: G1 (n=16) 1.5 ml of alpaca seminal plasma (SP) by intramuscular injection; G2 (n=15) 1.5 ml of phosphate-buffered saline (PBS) by intramuscular injection; G3 (n=16) 1.5 ml of SP by intrauterine administration; G4 (n=15) 1.5 ml of PBS by intrauterine administration; G5 (n=15) 1.5 ml of SP by intrauterine administration with curettage; G6 (14) 1.5 ml of PBS by intrauterine administration with curettage. Ovulation rate was determined by ultrasound evaluation on D<sub>2</sub> (D<sub>0</sub> = treatment) and corpus luteum was detected on day 8. Serum samples were taken by puncture of jugular vein on D<sub>0</sub>, D<sub>3</sub> and D<sub>9</sub> to determine hormonal profiles of progesterone by radioimmunoassay. Ovulation rate was G<sub>1</sub>: 93.7 %; G<sub>3</sub>: 37.5 % y G<sub>5</sub>: 66.5 % and 0.0 % to G<sub>2</sub>, G<sub>4</sub> and G<sub>6</sub>. It was found that G<sub>1</sub> y G<sub>5</sub> will produced 25 and 3.33 more ovulations, than G<sub>3</sub>, respectively. However, only the G<sub>1</sub> was statistically significant. Results of present study suggest that of the ovulation – inducing factor (OIF) present in seminal plasma have systemic absorption such as shows results of intramuscular injection (93.7%) and that the degrees of absorption different of the OIF with deposition of seminal plasma intrauterine with curettage (66.5%) and without curettage (37.5%) suggest that absorption site of ovulation – inducing factor (OIF) would be in the mucosa uterine and that mechanical action of curettage would contribute to the absorption of the OIF present in seminal plasma and increased ovulatory effect of seminal plasma.

**Keywords:** *alpacas, seminal plasma, ovulation induced, Ovulation – Inducing Factor (OIF)*

## LISTA DE CUADROS

Pág.

### **Cuadro 1.**

Componentes bioquímicos del plasma seminal de llamas y alpacas..... 29

### **Cuadro 2.**

Distribución de Grupos experimentales..... 36

### **Cuadro 3.**

Tasa de Ovulación el día D<sub>2</sub> como efecto de la administración intramuscular, intrauterina sin curetaje e intrauterina con curetaje de plasma seminal en los grupos G<sub>1</sub>, G<sub>3</sub>, G<sub>5</sub>, y de PBS en los grupos G<sub>2</sub>, G<sub>4</sub> y G<sub>6</sub>.....41

### **Cuadro 4.**

Diámetro del folículo dominante (mm) el D<sub>0</sub> en los grupos G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, G<sub>3</sub>, G<sub>4</sub>, G<sub>5</sub> y G<sub>6</sub> al inicio de los tratamientos.....42

### **Cuadro 5.**

Diámetro del cuerpo lúteo (mm) el día D<sub>8</sub> como efecto de la ovulación después de la administración de plasma seminal vía intramuscular, intrauterina sin curetaje e intrauterina con curetaje en los grupos G<sub>1</sub>, G<sub>3</sub> y G<sub>5</sub>.....43

### **Cuadro 6.**

Concentración de progesterona sérica (ng/ml) en hembras alpacas tratadas con plasma seminal y PBS vía intramuscular, intrauterina e intrauterina con curetaje los días D<sub>0</sub>, D<sub>3</sub> y D<sub>9</sub>.....44



## LISTA DE FIGURAS

	Pág.
<b>Figura 1.</b> Diseño Experimental.....	38

## ANEXO

	Pág.
Valores de la regresión logística aplicada a la ovulación y la vía de administración intramuscular, intrauterina sin curetaje e intrauterina con curetaje de plasma seminal en alpacas hembras.....	65

## I. INTRODUCCIÓN

Los camélidos sudamericanos presentan una fisiología reproductiva característica que los diferencian de otros mamíferos conocidos. La alpaca se clasifica dentro del grupo de ovuladoras inducidas y donde el factor principal que desencadena el fenómeno de la ovulación está dado por la cópula (Fernández – Baca *et al.* 1972), estímulo que desencadena la liberación del pico pre ovulatorio de LH hipofisiaria y con ello el fenómeno ovulatorio y posterior formación del cuerpo lúteo (Bravo *et al.* 1991).

La ovulación también puede inducirse con el uso de las hormonas hCG (San Martín *et al.* 1968; Fernández – Baca *et al.* 1970a), LH y GnRH (Sumar y Bravo, 1981 citado por Sumar, 1991; Chen *et al.* 1985; Aller *et al.* 1999 y Huanca *et al.* 2001). Por otro lado, los estudios de Ríos (1985); Ciprián (2000); López (2004) y Vásquez (2005) demuestran que la ovulación puede ser inducida con plasma seminal en llamas y alpacas.

Los estudios reportan al plasma seminal de la alpaca como factor clave para desencadenar la ovulación en la hembra. Sin embargo, aún se requieren estudios que ayuden a esclarecer el mecanismo por el cual el plasma seminal contribuye a la respuesta ovulatoria.

López (2004), Vásquez (2005) y Adams *et al.* (2005), reportan que la administración intramuscular de plasma seminal induce la ovulación en un 100%; Ciprián (2000), mediante administración de plasma seminal vía intrauterina encontró una tasa ovulatoria de 20 y 30% en llamas y alpacas respectivamente y; Ríos (1985) obtuvo 7.6% de ovulación al administrar plasma seminal vía intravaginal. Lo que sugiere que la vía de aplicación del plasma seminal ejerce influencia sobre la presentación de la ovulación en los camélidos sudamericanos.

Por tal motivo, el presente estudio está orientado a determinar el efecto del sitio de deposición del plasma seminal sobre la tasa de ovulación y formación del cuerpo lúteo en alpacas.

## **II. ANTECEDENTES**

### **2. 1. Fisiología Reproductiva de la Alpaca hembra**

#### **2. 1. 1. Endocrinología Reproductiva**

En la hembra, la formación y liberación de las células germinales es un proceso cíclico debido a las interacciones endocrinas que se producen entre el hipotálamo, la hipófisis y los ovarios. El crecimiento y maduración folicular constituye un proceso que se encuentra regulado por las gonadotropinas FSH y LH una vez que el animal ha alcanzado la pubertad y la subsiguiente madurez sexual (Hafez y Hafez, 2000).

Las hormonas Luteinizante (LH) y Folículo Estimulante (FSH) influyen en forma decisiva sobre la reproducción en los mamíferos. La síntesis y secreción de estas hormonas a partir de células especializadas de la hipófisis estimularán la esteroidogénesis y gametogénesis en machos y hembras. Además, la regulación de la síntesis de gonadotropinas involucra una compleja interacción entre hormonas hipotalámicas y gonadales (Hamernik, 1995).

El componente final del sistema endocrino reproductivo que regula el momento de presentación de la pubertad en vaquillas y ovejas, es el hipotálamo (Schams *et al.* 1981).

Cuando la pubertad es inminente aumenta la frecuencia de los picos de hormona luteinizante (LH) con la consecuente oleada preovulatoria de la misma, relacionándose con el estro conductual durante el periodo puberal (Hafez y Hafez, 2000).

En la etapa final del crecimiento folicular, el folículo dominante que contiene mayor cantidad de estrógenos actuará como un indicador de maduración provocando, mediante un efecto de retroalimentación positiva en el hipotálamo (García *et al.* 1995) la liberación en forma pulsátil de GnRH (Hormona Liberadora de Gonadotropinas) que actuará sobre los receptores de membrana específicos situados en las células gonadotrofas de la hipófisis, para controlar la síntesis y secreción de las gonadotropinas, LH y FSH (Brooks, J. y McNeilly, 1996).

Cuando el folículo dominante secreta grandes cantidades de la hormona Inhibina sintetizada por las células de la granulosa y contenida en el líquido folicular realiza una retroalimentación negativa en el hipotálamo disminuyendo la secreción de FSH sin afectar la secreción de LH; y con ello limita el crecimiento del resto de folículos que deberán atresarse (García *et al.* 1995; Illera, 1994).

La secreción pre – ovulatoria de LH es conocida como “Pico de LH” y está dirigido a activar la maduración final y ovulación del folículo dominante. El pico de LH se produce generalmente 24 horas antes de la ovulación y la duración es muy corta, de 12 a 24 horas, probablemente por que los estrógenos disminuyen en concentración cuando el folículo responde al pico gonadotrópico pre – ovulatorio (García *et al.* 1995).

En el caso de las ovuladoras inducidas como es la alpaca y la llama, entre otras, la cópula reemplaza a los estrógenos como estímulo desencadenante de la secreción pre - ovulatoria de gonadotropinas (García *et al.* 1995).

Aba *et al.*, (1995) determinaron en alpacas los cambios endocrinos pos monta donde los niveles de LH y prostaglandina fueron altos inmediatamente después de la monta. Los primeros incrementos significativos de progesterona se registraron en el día 4 pos servicio. La vida del cuerpo lúteo en aquellos animales que no preñaron fue aproximadamente 8 – 9 días y la luteólisis ocurrió en asociación con liberación de prostaglandina. En las hembras preñadas hubo un decremento transitorio en progesterona observado entre los días 8 y 18, no teniendo importancia significativa los cambios de las concentraciones de prostaglandina. Las concentraciones de Estradiol 17- $\beta$  fueron altas el día de la monta, declinó el día 4 y comenzó a incrementarse nuevamente en el día 8.

El pico de estradiol después de la luteólisis en animales no preñados fue significativamente más alto que aquellos registrados en las preñadas (Aba *et al.* 1995; Aba *et al.* 2000). Además, las concentraciones de Estradiol 17- $\beta$  fueron más elevados por un periodo largo en las no preñadas que en las preñadas. Estos resultados sugieren que la progesterona secretada por el cuerpo lúteo ejerce una influencia negativa en la actividad folicular en animales preñadas por la reducción en la secreción de estradiol.

### **2. 1. 2. Pubertad**

La pubertad se define básicamente como el momento en que la hembra o macho es capaz de producir gametos viables y manifestar completo comportamiento sexual (Hafez y Hafez, 2000). Asimismo, la pubertad debe ser considerada como un proceso más que un simple evento (Senger, 2004).

La exactitud del inicio de la pubertad en alpacas aún es inespecífica. No obstante, en observaciones realizadas han determinado que a los 12 – 13 meses de edad, las hembras ya se muestran sexualmente activas, similar al comportamiento sexual de las adultas; además se ha observado que las tasas de ovulación, fertilización y sobrevivencia embrionaria en alpacas de esta edad servidas con machos enteros son similares a las encontradas en hembras adultas multíparas (Fernández – Baca, 1968). Sin embargo, debe considerarse que la actividad ovárica comienza a partir de los diez meses encontrándose folículos de 5 mm o más (Novoa *et al.* 1972).

El nivel nutricional tiene influencia sobre el inicio de la pubertad (Novoa *et al.* 1972); señalándose que existe una relación altamente significativa entre peso corporal al momento del primer empadre y la tasa de natalidad en alpacas (Leyva y Sumar, 1981). Concluyéndose que por cada kilogramo de incremento en el peso corporal había un 5% de incremento en la tasa de natalidad cuando el peso de la hembra alcanzaba o superaba los 33 Kg.



### 2. 1. 3. Estacionalidad y Comportamiento Sexual

#### a) **Estacionalidad**

El parto de los camélidos sudamericanos en los andes tiende a coincidir con la estación de lluvias (diciembre - marzo); donde hay la mejor disponibilidad de alimento y buena temperatura medio ambiental (Fernández – Baca, 1991).

La alpaca presenta una tendencia a la estacionalidad en su actividad reproductiva. En los rebaños en que machos y hembras permanecen juntos todo el año, como es el caso de las explotaciones pobremente organizadas, la parición se circunscribe solamente al período comprendido entre enero y marzo. Esto puede interpretarse como que la actividad efectiva de los machos tiene lugar solamente en la época de verano (Fernández - Baca, 1971).

Fernández Baca *et al.* (1972) demostraron que esta estacionalidad reproductiva depende más del manejo que de influencias estacionales. Cuando la alpaca macho y hembra están en asociación permanente durante el año, sólo paren en meses de diciembre a marzo y cuando se les mantiene separados y se les junta periódicamente suceden apareamientos y preñeces en diferentes meses del año; lo mismo sucede con la llama y con las especies silvestres.

Además, la asociación continua de ambos inhibe de alguna manera la actividad sexual de los machos por motivos aún no determinados pero esta inactividad desaparece parcialmente en la estación de verano dado que el recambio del grupo de hembras a los 15 días motiva el reinicio de la actividad sexual de los machos, debido probablemente al cambio de estación, mejor disponibilidad de alimento o la presencia de mayor número de hembras en celo como consecuencia de los partos (Fernández Baca *et al.* 1972).

En investigaciones de Fernández – Baca *et al.* (1972); se observó que la conducta sexual de hembras y machos cuando se les asocia en meses diferentes a la época lluviosa es la misma que adoptarían en dicha época,

donde mejoran las condiciones medio ambientales; además de la capacidad fertilizante del macho que no se ve afectada por la estación del año.

Sumar *et al.*, (1990) citado por Sumar (1991) estudiando los niveles de testosterona circulante en alpacas y llamas en 4 épocas diferentes del año encontraron diferencias estadísticamente significativas en ambas especies entre los meses de junio, donde hay una muy marcada escasez de alimentos y temperaturas bajo 0°C y diciembre, donde hay mejora y abundancia de alimentos y temperaturas mayores a 0°C lo que concuerda con las variaciones de líbido de los machos alpaca y llama.

#### **b) *Comportamiento Sexual***

Es conocido que en la mayoría de animales domésticos los signos externos a manifestarse durante el periodo de estro o celo se encuentran bien definidos. Lo que no sucede en el caso de la alpaca hembra que permanece continuamente en celo; sin embargo, muestra un patrón de conducta sexual en presencia del macho (Fernández – Baca, 1968; Sumar, 1983).

Toda hembra receptiva muestra una posición decúbito ventral y el macho sobre ella abrazándola con los miembros anteriores (Fernández Baca y Novoa, 1968; Koford, 1957 y Raedeke, 1979 citados por Novoa, 1991;). Los movimientos pélvicos de aproximación que el macho realiza favorece a la deposición del semen intrauterinamente (Franco *et al.* 1981, citado por Novoa, 1991).

El macho corteja a las hembras, persiguiendo aparentemente al azar a cualquiera de ellas. La hembra al ser requerida emprende veloz carrera, hasta que finalmente si está en celo se detiene y se deja montar de pie, para luego caer echada sobre su vientre y aceptar la cópula (Sumar, 1983; Novoa y Leyva, 1996).

El periodo de cortejo es muy corto, usualmente menos de un minuto. Aquellas hembras no receptivas, rechazan los requerimientos del macho, escapando y escupiéndolo; machos muy agresivos y adultos, ignoran a veces

el rechazo, y en algunos casos pueden forzar a las hembras no receptivas, especialmente primerizas, a tomar la posición de monta, presionando con los miembros anteriores en los flancos de las hembras y aprovechando el mayor peso corporal. (Sumar, 1993)

Otras hembras en celo, responden a la presencia del macho y a la pareja en cópula, adoptando la posición de monta, muy cerca de ellos, o simplemente se quedan olfateando al macho. Durante el apogeo de la estación de monta, es frecuente ver hembras en celo, montar a otras hembras del rebaño, de manera similar a lo que sucede en vacunos (Fernández – Baca, 1971; Sumar, 1983; Novoa y Leyva, 1996).

#### **2. 1. 4. Ovulación**

Entre los mamíferos existen dos tipos de ovuladoras: Las ovuladoras espontáneas y las ovuladoras inducidas o reflejas. Las ovuladoras espontáneas como la oveja, vaca, cabra, yegua e incluso la mujer ovulan con una regular frecuencia y ciclicidad y no requieren necesariamente de la cópula. La ovulación es provocada totalmente en respuesta a cambios hormonales. Contrariamente, las ovuladoras inducidas o reflejas requieren del estímulo coital para que se realice el fenómeno de la ovulación, la cual es inducida por estimulación táctil de determinados receptores sensitivos presentes en la vagina y cérvix en el momento del coito y transmitida por la médula espinal hacia el centro preovulatorio hipotalámico (Senger, 2004), provocando un reflejo neuro endocrino que activa el centro cíclico de la GnRH liberándose la oleada pre ovulatoria de LH (Arthur, 1991). Si el estímulo es de suficiente magnitud, las neuronas del centro preovulatorio provocarán la liberación de la GnRH por medio de pulsos estimulando luego a la adenohipófisis la síntesis y posterior secreción pulsátil de LH e inducir la ovulación con la consecuente liberación del ovocito (Hafez y Hafez, 2000).

En un ciclo ovárico típico de ovuladoras espontáneas, la fase folicular es seguida inmediatamente por una fase luteal. En el caso de las ovuladoras inducidas, la fase folicular es continua y sólo es interrumpida cuando ocurre la ovulación provocada por estímulo de la cópula u hormonas exógenas (Bravo, 2002). Son especies de ovulación refleja o inducida la gata, conejo, visón, hurón y aquí se incluyen a los camélidos (camello, llama y alpaca).

#### **2. 1. 4. 1. Características de Ovulación en alpacas**

Los estudios realizados han demostrado que la alpaca difiere reproductivamente de otros animales domésticos al no presentar ciclos estruales definidos. Es así, que la hembra permanece en estado de celo permanente debido a la secreción continua de estrógenos de un desarrollo folicular en constante crecimiento y que sólo logrará la ruptura de los folículos preovulatorios cuando la hembra sea servida por el macho en cualquier momento y con ello desencadene la ovulación como respuesta al estímulo inducido por la cópula. Lo que da la característica de su conducta sexual (Fernández – Baca, 1968). La mayoría de animales domésticos como la vaca, oveja y el porcino por ejemplo estarán sexualmente receptivas sólo durante un corto periodo de tiempo al que se denomina periodo de celo o estro y es en esta fase donde espontáneamente se produce la ovulación con excepción de la vaca que ovula a las 12 horas de finalizado el celo (Arthur, 1991).

El primer reporte sobre la ausencia de ciclos estruales en alpacas fue Zúñiga (1958). Posteriormente, en otro estudio donde hembras separadas de machos excepto por periodos cortos de exposición para detección de celo, permanecen en estro hasta 30 – 40 días con periodos cortos de anestro no mayores de 48 horas. Esta característica típica de animales de ovulación inducida, no ovulan a menos que haya un estímulo que lo desencadene, como la cópula o la presencia del macho (San Martín *et al.* 1968).

Fernández Baca (1971) señala que la ovulación de la alpaca depende del estímulo coital y mientras no haya cópula no hay ovulación y por lo tanto la hembra continúa en celo. Aunque su efectividad individual quizá se muestre asociada a otros estímulos complementarios como: soplidos, gruñidos y sonidos laringonasaes (Sumar, 1991). En la llama la ovulación también es inducida por la cópula (England *et al.* 1969; Sumar *et al.* 1988b; Bravo *et al.* 1990 a y b).

En el caso del dromedario hembra los trabajos de Musa y Abusineína (1978) demostraron que la ovulación espontánea requiere del estímulo del coito y que la estimulación manual de la cerviz no induce la ovulación.

Las investigaciones de Fernández – Baca *et al.*, (1972) que confirman la naturaleza de la ovulación inducida en la alpaca; para la descarga de la hormona luteinizante, es necesario el estímulo proveniente de la introducción del pene, puesto que hembras montadas por machos provistos de mandil para impedir la cópula, o por otras hembras en celo, no responden con ovulación en la mayoría de los casos. Sin embargo alrededor del 20% de hembras no ovulan a pesar de haber recibido estímulo coital simple o múltiple, debido probablemente a que las fallas de ovulación en el caso de monta natural se deban a deficiencias en la síntesis o secreción de gonadotropinas hipofisiarias.

Esto fue reportado por Bravo *et al.*, (1991) en un estudio sobre el efecto del tamaño folicular ovárico sobre la pituitaria y la respuesta ovárica a la copulación en llamas y alpacas encontraron que, si bien todas las hembras copularon prescindiendo del tamaño del folículo ovárico, aquellas hembras con folículos pequeños (4 – 5 mm) liberaron menos LH después de la copulación que aquellas que lo hicieron con folículos grandes, y la ovulación no fue inducida. Hembras con folículos en crecimiento y maduros (7 – 12 mm) liberaron LH en respuesta a la cópula que fue adecuada para inducir ovulación y posteriormente una actividad luteal normal. En aquellas hembras con folículos en regresión, la liberación de LH inducida por la cópula fue similar a la observada en hembras con folículos en crecimiento y maduros, pero en lugar

de iniciar la ovulación, los folículos en regresión fueron luteinizados. El tejido luteal resultante tuvo una vida de 5 días comparada con un mínimo de 10 días de aquellos cuerpos lúteos originados de folículos en crecimiento y maduros. De estos resultados parece que los folículos en llamas y alpacas deben alcanzar un tamaño mínimo para liberar cantidades ovulatorias de LH en respuesta a la copulación.

Por otro lado, existe 5% de los casos en que la ovulación ocurre sin previo estímulo coital, denominándose “ovulaciones espontáneas” dado que las hembras no están totalmente privadas de los estímulos visuales, olfatorios y auditivos del macho (Sumar, 1993; Leyva y Sumar, 1987 citados por Sumar, 1993).

También se ha reportado la ocurrencia de ovulaciones múltiples en un 10%. Sin embargo, no hay reportes de nacimiento de mellizos (Novoa, 1989).

Las hormonas que se liberan por el estímulo coital serían insuficientes para provocar la ovulación debido a que la glándula pituitaria restringe la secreción de las gonadotropinas, sobretodo cuando las alpacas están deficientemente nutridas. Sin embargo, estas irregularidades producto de deficiencias nutricionales, se supera con dosis óptimas de hormonas mediante inyecciones intramusculares de hCG (750 UI vía im.) donde la tasa ovulatoria llega a un 100% (Fernández – Baca *et al.* 1970a; Calle, 1982).

Los reportes sobre duración de la cópula varían. En empadre libre y donde hay competencia entre machos, se registra  $8.1 \pm 4$  minutos; en cambio, en empadre controlado el tiempo es de  $17.5 \pm 12.1$  minutos. Fernández Baca, (1971) reportó que la monta dura de 5 a 50 minutos y que esta duración parece variar en función de la frecuencia de montas del macho, siendo de mayor tiempo los primeros servicios que los posteriores influenciando también sobre la calidad del semen.

Bravo *et al.* (1990a) y San Martín *et al.* (1968) señalan que la cópula dura de 5 a 50 minutos, promediando entre 18 y 20 minutos para la alpaca y llama respectivamente. England *et al.* (1971) citado por Smith (1994), informó una duración entre 3 a 65 minutos con un promedio de 20 minutos durante el cual la eyaculación toma lugar lentamente.

El intervalo desde el empadre al momento en que ocurre la ovulación son 26 horas después de la monta natural y donde el factor apropiado y más importante para desencadenarlo está dado por el estímulo coital (Rodríguez, 1959; San Martín *et al.* 1968).

Vivanco *et al.* (1985) demostraron que la sola presencia del macho alpaca indujo la ovulación en un 42.86% entre 24 y 36 horas pos servicio sin cópula y que a mayor duración del tiempo de cópula mayor era el porcentaje de ovulación. Sin embargo, Huanca *et al.* (2001) reportaron que el intervalo desde el empadre al momento de la ovulación por monta natural es de  $30.13 \pm 1.30$  horas.

## **2. 1. 4. 2. Métodos artificiales de Inducción de la Ovulación**

### ***Uso de Hormonas en inducción de ovulación***

Los primeros estudios para inducir la ovulación mediante el uso de hormonas demostraron que el fenómeno ovulatorio ocurría a las 24 horas después de administrarse vía endovenosa hormonas tales como: Gonadotropina coriónica humana (hCG) en dosis de 10 a 1600 UI (San Martín *et al.* 1968; Fernández - Baca *et al.* 1970a), Hormona Luteinizante (LH) y Hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) en dosis de 1mg y 4.8 mg respectivamente (Sumar y Bravo, 1981 citado por Sumar 1991).

En llamas las investigaciones de Aller *et al.* (1999) reportan que la ovulación ocurre entre 24 y 48 horas pos inyección de GnRH y LH. Además, Huanca *et al.* (2001) después de administrar vía intramuscular LH y GnRH y utilizando

ultrasonografía para una evaluación continua encontraron que la ovulación se produce a las  $30.15 \pm 1.59$  horas y  $30.24 \pm 2.29$  horas respectivamente.

En la camella bactriana (*Camelos bactrianus*) inyecciones intramusculares de LH (300 UI), hCG (100 – 200 UI) y un análogo de GnRH también causaron ovulación al cabo de 36 horas pos administración hormonal. (Chen *et al.* 1985)

### **2. 1. 5. Cuerpo lúteo**

Una vez producida la ovulación, los elementos residuales del folículo se reorganizan y el coágulo formado por la ruptura de la lámina basal y vasos sanguíneos, actuará a manera de trama y medio de sostén para las células de la granulosa y de la teca durante su transformación en células lúteas. Las células de la granulosa se hipertrofian y almacenan material lipídico, paralelamente se produce gran desarrollo mitocondrial que junto a las células tecales luteinizadas van formando una estructura caracterizada además por abundante vascularización que se denominará cuerpo lúteo (García *et al.* 1995; Sumar, 2002).

El cuerpo lúteo es una estructura temporal dentro del ovario que se hace funcional solamente después de la ovulación. Es responsable de la secreción de progesterona, el principal soporte de la preñez (Bravo, 2002).

Después de la ovulación, las células del folículo, de secretoras de estrógenos se transforman en secretoras de progesterona (Novoa y Leyva, 1996). Si hay fertilización entonces el cuerpo lúteo se mantiene durante toda la gestación. (García *et al.* 1995).

La luteinización se inicia con la secreción del pico pre – ovulatorio de LH, acelerándose en el momento de la ovulación. Posteriormente el cuerpo lúteo se mantiene con niveles basales (secreción tónica) de LH (García *et al.* 1995).



En camélidos (llamas y alpacas), el cuerpo lúteo se forma como resultado de la ovulación después de la cópula o después de la administración de hormonas con actividad LH (Bravo *et al.* 1990 a y b; Fernández – Baca *et al.* 1970b).

El cuerpo lúteo crece rápidamente de 7 mm de diámetro el día 3 post monta a 10 – 12 mm el día 7 a 8 después del servicio. Si no hay fertilización entonces el cuerpo lúteo regresa a los 10 – 11 días aproximadamente por acción de las prostaglandinas (Sumar *et al.* 1988, citado por Bravo, 2002).

El cuerpo lúteo, puede detectarse directamente por palpación rectal o ultrasonografía (Adams *et al.* 1991; Bravo y Fowler, 1988) e indirectamente por la presencia de progesterona en el plasma (Bravo *et al.* 1990 a y b).

Después de la cópula estéril y subsiguiente ovulación, el cuerpo lúteo que se forma desarrolla rápidamente alcanzando actividad secretoria máxima de progesterona el día 9 y luego el día 12 comienza a regresar; entonces se forman nuevos folículos y la hembra retorna en celo (Fernández Baca *et al.* 1970b). Por otro lado, England *et al.* (1969) después de inducir la ovulación en llamas, determinó que el cuerpo lúteo estuvo bien formado al 4to día pos servicio, alcanzando un tamaño máximo el día 8 y rápidamente decrece por el día 16.

Un trabajo realizado en llamas no preñadas y preñadas reportan que el cuerpo lúteo puede detectarse por ultrasonografía transrectal en promedio a los  $3.1 \pm 0.2$  días pos ovulación para ambos grupos y alcanza su diámetro máximo a los  $5.9 \pm 0.3$  y  $21.4 \pm 1.2$  días respectivamente. El mayor diámetro que alcanza el cuerpo lúteo es de  $12.8 \pm 0.3$  mm y  $16.3 \pm 0.3$  mm respectivamente. Habiendo una caída de progesterona en el día 8 pos ovulación, que es recuperado después del día 10 en el caso de las preñadas (Adams *et al.* 1991).

La progesterona aparece en sangre 2 a 3 días después de la ovulación o 3 a 4 días después del servicio y ovulación (Adams *et al.* 1991; Bravo *et al.* 1990 a y b; Sumar *et al.* 1988 citado por Bravo, 2002).

Las concentraciones de progesterona en la sangre incrementan el día 4 y alcanza niveles máximos el día 8 post – servicio. En las hembras no preñadas, los niveles de progesterona disminuyen hasta niveles no detectables los días 10 a 11 y se incrementan los niveles de prostaglandina, principio luteolítico en alpacas y llamas. Mientras que en las preñadas también hay disminución de progesterona pero de forma transitoria para luego incrementar y mantenerse durante toda la preñez (Novoa y Leyva, 1996).

La conducta sexual coincide con los cambios en los niveles sanguíneos de progesterona. Mientras se forma el cuerpo lúteo e inicia su actividad secretoria, (4 – 5 días pos cópula) las hembras pueden mostrar celo y ser reservadas. Posteriormente, la presencia de un cuerpo lúteo funcional inhibirá la presentación de celo. En el caso de no existir preñez, Fernández – Baca (1967) comprobó mediante laparotomía que el cuerpo lúteo, formado por monta estéril u ovulación inducida por hormonas, regresa en aproximadamente 20 días, permitiendo un nuevo celo y posibilidad de iniciar la gestación.

Las hembras preñadas necesariamente deben mantener la producción de progesterona por el cuerpo lúteo para mantener la gestación. Esto significa que el útero debe recibir alguna señal que inhiba la síntesis de prostaglandinas y con ello la luteólisis. Este mecanismo conocido como el reconocimiento maternal de la preñez es desencadenado por la emisión de señales, generalmente originadas por el propio embrión, para inhibir la luteólisis. Las señales que indican la presencia de un embrión al endometrio son diferentes en las distintas especies (García *et al.* 1995).

Fernández – Baca (1993) sugirió que la caída transitoria de  $P_4$  en alpacas estaría representando la iniciación de la regresión luteal inducida por el útero, donde estaría involucrada la  $PGF2\alpha$  como agente luteolítico pero en presencia

del embrión las señales emitidas para su reconocimiento maternal (Aba *et al.* 1995) y la acción de un mecanismo antiluteolítico en los días 10 – 12 pos monta protegerían al cuerpo lúteo (Aba *et al.* 1997).

La presencia de progesterona en sangre y pregnadiol en orina es indicativo de cuerpo lúteo funcional. La concentración de progesterona  $\geq 1\text{ng/ml}$  a los 7 días pos servicio indica ovulación y actividad luteal pero no necesariamente preñez; la misma cantidad a los 21 días es indicativo de preñez. La progesterona es necesaria para mantenimiento de la preñez durante todo el tiempo gestacional. La ablación del cuerpo lúteo u ovariectomía del ovario que contiene el cuerpo lúteo en la preñez de la llama o alpaca termina con la gestación en 24 horas (Sumar, 1988a).

Cuando Leyva y García (1999a) administraron progesterona exógena a alpacas, corroboraron una disminución en los días de celo ( $1.3 \pm 0.5$  días) que normalmente ocurre después de una ovulación ( $3.8 \pm 0.5$  días) sugiriendo que el eje hipotálamo – hipofisiario de la alpaca en celo produce insuficiente  $P_4$  para ejercer efecto inhibitorio y que al administrar  $P_4$  exógena tempranamente disminuye la vida del cuerpo lúteo en la fase luteal inducida y el efecto disminuye conforme incrementa en edad el cuerpo lúteo.

Asimismo, el efecto exógeno de la prostaglandina  $\text{PGF2}\alpha$  afecta la vida del cuerpo lúteo cuando es administrada después del día 4 de la fase luteal, sugiriendo que la  $\text{PGF2}\alpha$  es el agente luteolítico en camélidos (Leyva y Garcia, 1999b).

## 2. 1. 6. Dinámica Folicular en Camélidos Sudamericanos

La fisiología del ciclo ovárico tiene 2 fases: la fase folicular y la fase luteal del ciclo ovárico. Los folículos son estructuras llenas de fluido que contienen al ovocito y se localizan dentro de los ovarios. Los cambios en el tamaño y forma del ovario guardan relación con la edad y el estadio reproductivo (Bravo, 2002).

En los camélidos, por ser ovuladoras refleja la fase folicular es continua y caracterizada por la ocurrencia de ondas foliculares (Bravo, 2002). Con los estudios de ultrasonografía y laparoscopia, la formación y crecimiento folicular en el ovario de la alpaca se produce en lo que se ha denominado “Ondas foliculares”; es decir, crecimiento de los folículos de Graff, maduración y regresión o atresia folicular con 10 a 12 días de duración entre ondas. Éstas tienden a superponerse una sobre otra, alternándose los ovarios en más del 80% de veces, es decir cuando un ovario posee un folículo grande, el ovario del lado opuesto se mantiene quieto (Bravo, 1990).

La ocurrencia de ondas foliculares se caracterizan por una sucesión constante de crecimiento, maduración y regresión folicular que ocurren cada 12 – 14 días con rango de 7 – 19 días en alpacas y 10 – 21 días en llamas entre una onda y la siguiente. El crecimiento se da aproximadamente en 4 – 5 días, maduran entre 4 – 5 días y regresionan al cabo de 3 – 4 días. El folículo dominante es aquel que alcanza un diámetro aproximadamente de 7mm. Mientras que uno de los ovarios presenta folículos ovulatorios y se da la dominancia, en el ovario opuesto, van creciendo otros folículos que adquirirán rápidamente el tamaño ovulatorio cuando en el primero, los folículos existentes se volverán atrésicos (Bravo y Sumar, 1989; Bravo, 1992).

En vicuñas (*Vicugna vicugna*), Miragaya *et al.* (2004) estudiando las características de la actividad ovárica en esta especie determinaron que la actividad folicular también ocurre en ondas con sus respectivas fases de emergencia, crecimiento y regresión de los folículos con un intervalo entre ondas foliculares de  $7.2 \pm 0.5$  días con un rango de 4 a 11 días. Y la actividad

folicular se alterna en cada ovario en el 77% de las ondas, con un 40% de folículos dominantes presentes en el ovario izquierdo y 60% en el ovario derecho.

Un ovario normal siempre posee 2 ó 3 folículos pequeños de 3 mm. de diámetro y es detectable por ultrasonografía. Los folículos pueden crecer hasta 6 mm sin mostrar dominancia, pero después de este tamaño uno se vuelve dominante sobre los otros. La dominancia se mantiene sobre los otros folículos del ovario que lo contiene o del ovario del lado opuesto (Bustinza, 2001).

De los varios folículos que emergen del ovario sólo uno continúa su desarrollo y crece de 3 a 8 – 12 mm por 5 días adicionales y luego regresiona en un lapso de 4 días más (Novoa y Leyva, 1996). Debido a que las ondas tienden a sobreponerse, el nuevo folículo dominante inicia su desarrollo entre 2 a 3 días antes de la regresión del folículo dominante presente (Bravo, 2002).

La sucesión de folículos dominantes se repite una y otra vez entre ovarios hasta que la cópula induzca la ovulación y se forme el cuerpo lúteo. Aún en presencia del cuerpo lúteo se forman folículos. (Bravo, 2002)

Sumar (1997) señala que a pesar de no existir estudios exhaustivos sobre fertilidad y día de servicio en la onda folicular, se sabe que la hembra camélida puede admitir al macho durante la etapa de crecimiento y regresión, sin embargo no todos los servicios de las hembras receptivas terminan en preñez. Si la hembra es servida durante la etapa de crecimiento folicular, podrá ovular si recibe el estímulo adecuado pero el cuerpo lúteo regresionará rápidamente y con ello la manifestación nuevamente de celo. Y si la hembra es servida durante la etapa de regresión folicular, también podrá ovular, pero el huevo así formado no podrá prosperar más adelante volviendo la hembra en celo. Solamente cuando ésta es servida en la etapa de maduración de los folículos (después de la ovulación y la fertilización) el huevo continuará en su desarrollo e implantación con el adecuado funcionamiento del cuerpo lúteo. De ahí que en

la práctica cuando las alpacas receptivas son sometidas a cópula en un solo servicio se logra sólo una tasa no mayor al 30% de fertilidad y natalidad.

En la crianza intensiva de alpacas, un método que indique el estadio de crecimiento de los folículos, permitiría servir a la hembra en el momento oportuno, para asegurar la gestación. Un método por ejemplo estaría en poder determinar en la sangre periférica o en orina los niveles de estrógenos. Debido a que las ondas foliculares están correlacionadas con incrementos y decrementos de niveles de estrógenos circulantes (Sumar, 1997).

Igualmente, Bravo *et al.* (1990b) determinaron en muestras de orina de alpaca y llama, incrementos y decrementos de los estrógenos en los ciclos de la llama que duran aproximadamente 12 días. La hembra podría ser servida en el momento que muestre valores altos de estrógenos circulantes.

Esto puede tener importancia clínica significativa cuando se trabaja con hembras que son pequeñas para la palpación rectal o ultrasonografía. De tal manera, que encontrar niveles de sulfato de estrona sea en sangre u orina corresponden a la ocurrencia y desarrollo de las ondas foliculares; los progestágenos están en valores basales durante la fase folicular (Bravo, 2002).

Por otro lado, Santiani *et al.* (2001) corroboraron que la administración exógena de progesterona inhibe el desarrollo del folículo dominante y subordinados en llamas, permitiendo el desarrollo de una nueva onda folicular.

## **2. 1. 7. Métodos de Diagnóstico Reproductivo**

### **2. 1. 7. 1. Diagnóstico por Conducta Sexual**

La conducta sexual de la hembra ofrece un medio simple y muy eficaz de diagnóstico precoz de gestación en la alpaca. Una hembra no preñada vuelve en celo 13 – 14 días después del servicio y permanece receptiva mientras no reciba un estímulo capaz de inducir la ovulación; en cambio, en caso de preñez, hay ausencia de celo y la hembra rechaza enérgicamente al macho (Fernández – Baca, 1968).

Cárdenas *et al.* (2001) determinaron la fertilidad a los 16 días pos servicio en llamas mediante conducta sexual en un 63.1% (101 de un total de 160) de hembras que rechazaron al macho consideradas como preñadas y 36.9% de hembras que aceptaron al macho (59 de un total de 160), siendo consideradas como vacías. Sin embargo, al ser sometidas al ecógrafo pudo observarse ovarios con cuerpos lúteos en regresión y folículos en desarrollo, y en este grupo se encontró que de las 59 hembras “vacías”, habían 12 preñadas (7.5%) que aceptaban al macho, coincidente con el reporte de Fernández – Baca (1970c) y Sumar, (1993) que indican que no todas las hembras que rechazaban al macho, están necesariamente preñadas. Sin embargo, cuando este método por conducta sexual se aplica a llamas y alpacas entre los días 70 y 125 pos servicio la efectividad es del 84% y 95% respectivamente.

## **2. 1. 7. 2. Diagnóstico por Ultrasonografía**

La ultrasonografía es una técnica en la que se emplea ondas de sonido de alta frecuencia para producir imágenes de los tejidos blandos y órganos internos, las cuales pueden visualizarse a través de la pantalla del ecógrafo (Adams, 1995).

La técnica de ultrasonografía en reproducción bovina es muy solícita por el veterinario clínico y el especialista en biotecnología de la reproducción, ya que su aplicación confirma o desestima la valoración realizada por palpación rectal, constituyendo un medio diagnóstico de certeza en la dinámica de las ondas foliculares, desarrollo del cuerpo lúteo, la determinación del estado de gestación precoz, sexado de las crías y la evaluación de los procesos patológicos del sistema reproductor, entre otros usos (Bourke *et al.* 1992).

En los camélidos el estado reproductivo (estadíos ováricos) siempre ha sido examinado pos – mortem o por laparotomías seriadas o laparoscopías seriadas. (Bourke *et al.* 1992). Recién con la introducción en el mercado de sondas pequeñas de alta frecuencia ha sido posible aplicar la técnica ultrasonográfica en ellos (Adams *et al.* 1989, 1990; Bravo *et al.* 1990).

Se caracteriza a la ultrasonografía como una herramienta menos invasiva para la visualización repetida de los ovarios y tracto reproductivo. Es muy aplicada en especies de importancia económica comercial como el equino (Ginther, 1986 citado por Bourke, 1992) y bovino (Pierson y Ginther, 1988 citado por Bourke, 1992).

Bourke *et al.* (1992) realizaron el primer estudio que evaluó la técnica de ultrasonografía en llamas como herramienta que facilitara el monitoreo de la respuesta ovárica a la administración de hormonas exógenas. Técnica que fue bien tolerada y ha sido repetida a intervalos frecuentes sin efectos adversos.



En comparación con la palpación rectal, los folículos y cuerpo lúteo pueden ser diferenciados exactamente por sus diferentes imágenes ultrasónicas. Sin embargo, se hace necesario el conocimiento de la anatomía regional para la localización y manipulación del tracto reproductivo (Bourke *et al.* 1992).

La confirmación de la ovulación se da por la desaparición del folículo pre – ovulatorio visualizado previamente. Pudiendo detectarse la ovulación en promedio 1.8 días después de una monta simple (Adams, 1995).

Sumar (1989) observó el estroma ovárico ecogénico y más brillante que el resto de estructuras ováricas, los folículos  $\geq 4$  mm emiten imágenes anecoicas o no ecogénicas (negras) redondeadas. El cuerpo lúteo puede ser observado entre los 3 – 4 días post servicio. El tamaño del cuerpo lúteo maduro es de 11 a 13 mm de diámetro y se observa como una estructura hipoecogénica con un área central ecogénica horizontal (Adams *et al.* 1989; Sumar, 1989).

En la no preñez, el útero se observa como una estructura ecogénica, densa y con un lumen no distinguible. Mientras que en hembras preñadas se distingue zonas no ecogénicas (Bourke *et al.* 1992) debido al fluido en el lumen uterino, detectado a los 14 días en un 100% de hembras (Sumar, 1989). La vesícula embrionaria puede detectarse en el cuerno uterino izquierdo (Adams *et al.* 1989) alrededor del día 12 pos monta en alpacas (Bravo y Mayta, 2000).

El embrión se detecta desde los 21 a 22 días de gestación (Bourke *et al.* 1992; Bravo y Mayta, 2000) y a los 30 días se aprecian los latidos cardiacos y el cordón umbilical, de ahí en adelante hasta los 45 días la cavidad uterina y embrión se detectan con mayor facilidad (Sumar, 1989). El diagnóstico temprano de preñez se realizó a los 9 días post cópula en alpacas y a los 7 días en llamas (Parraguez *et al.*, 1997).

## **2. 2. Fisiología Reproductiva de la Alpaca macho**

El conocimiento de la fisiología reproductiva de los machos camélidos ha incrementado en los últimos 5 ó 6 años cobrando real importancia en el proceso productivo, debido a que en la práctica rutinaria muchas veces se utiliza un solo macho reproductor para empadrar a muchas hembras, ejerciendo directamente al mejoramiento genético de la especie (Bravo, 1998).

### **2. 2. 1. Endocrinología Reproductiva**

La eficacia de la diferenciación del sistema endocrino basa su actividad integrada a través del interjuego de señales tanto hormonales como neurales entre el sistema nervioso central, el hipotálamo, la hipófisis y los testículos (Illera, 1994).

El factor liberador de gonadotropinas (GnRH), la hormona luteinizante (LH), la hormona folículo estimulante (FSH), la Inhibina ( $I_2$ ) y factores reguladores intratesticulares controlan el proceso de reproducción en el macho (Galloway, 1997).

El rol principal de los machos es producir espermatozoides que contengan material genético y sean capaces de fertilizar al óvulo, y luego de combinarse con el plasma seminal depositen el semen formado dentro del tracto reproductivo de la hembra. El testículo tiene por funciones principalmente la producción de hormonas esteroides y la gametogénesis (Illera, 1994; Hafez y Hafez, 2000)

Existe una dependencia de las hormonas esteroides (Testosterona) de las gonadotropinas LH y FSH producidas y secretadas en la adenohipófisis (Illera, 1994), siendo todas ellas hormonas clave para la regulación de la espermatogénesis en mamíferos (Illera, 1994).

A diferencia de lo que ocurre en las hembras que tienen un periodo de liberación basal seguido por una oleada pre – ovulatoria de GnRH, en los machos la descarga de GnRH ocurre en picos episódicos (frecuentes e intermitentes). Estos episodios de GnRH duran unos pocos minutos e inmediatamente causa descargas de LH. La descarga de LH dura entre 10 y 20 minutos y ocurren entre 4 a 8 veces a lo largo del día. Las concentraciones de FSH son mínimas, pero los pulsos son más duraderos que la LH a causa de la Inhibina, secretada por los testículos del macho adulto, (Senger, 2004). Además de la LH y FSH producidas en respuesta a la GnRH, también se produce la hormona prolactina, cuya función en el macho no está del todo aclarada. Se asume que la prolactina potencia el efecto de la LH en la formación de testosterona por las células de Leydig (Galloway, 1997).

La línea celular espermatogénica y las células de Sertoli están contenidas en los túbulos espermatogénicos del testículo y en el tejido intersticial están las células de Leydig, productoras de testosterona (Galloway, 1997).

La LH estimula a las células de Leydig para la producción y liberación de testosterona, ésta difunde hacia las células de Sertoli y se secretan en la sangre, ejerciendo retroalimentación negativa tanto en el hipotálamo como en la hipófisis para bloquear la liberación de más LH (Hafez y Hafez, 2000).

La FSH tiene acción directa sobre el epitelio germinal del testículo y es importante en el desarrollo testicular antes de la pubertad. Además de estimular a las células de Sertoli la producción de inhibina, estimula el complejo ABP – Testosterona siendo transportado con los espermatozoides hacia el fluido epididimal. La inhibina ejerce un efecto de retroalimentación negativa sobre la secreción de FSH, pero no sobre la LH (Hafez y Hafez, 2000), a nivel hipofisiario más no a nivel de la GnRH hipotalámica (Tilbrook et al. 1997).

### 2. 2. 2. Pubertad

Se define la pubertad en el macho cuando inicia la espermatogénesis y paralelo a ello, la presencia de espermatozoides fértiles en el eyaculado (Fernández – Baca, 1991).

En la alpaca macho, Sumar (1983) reportó que al nacimiento, el pene está completamente adherido al prepucio por un tejido embrionario; estas adherencias desaparecen cuando el animal madura y comienza la producción de testosterona por el testículo. Al año de edad sólo un 8% está libre de la adherencia pene – prepucial, a los 2 años, el 70% y a los 3 años, el 100% se encuentra liberado totalmente. Entonces, la pubertad estaría sucediendo alrededor del décimo primer mes de edad donde la producción de testosterona sérica alcanza los valores normales de machos adultos (Losno y Coyotupa, 1981; Chuna *et al.* 1999).

En la llama, la pubertad inicia con una edad promedio de  $21.5 \pm 6.6$  meses (9 – 31m) (Sumar *et al.* 1988b) y con un peso de  $70.1 \pm 11.9$ Kg (48 – 92.5Kg), momento en que ya hay liberación pene – prepucial.

Por tanto, en la llama y alpaca, como en otros animales domésticos la precocidad sexual, es una característica deseable para los planes de mejoramiento genético siendo seleccionados aquellos machos al año de edad con liberación pene – prepucial. Sin embargo, en la mayoría de explotaciones alpaqueras los machos reproductores entran al primer servicio a partir de los tres años de edad (Fernández – Baca, 1991).

### **2. 2. 3. Comportamiento Sexual**

La alpaca macho revela un comportamiento sui generis, mostrando una actitud activa y algunas veces agresiva durante la monta, contrario a la actitud pasiva de la hembra (Sumar, 2000).

La interacción sexual entre ambos se da básicamente por el cortejo y la monta. El cortejo es el comportamiento por el cual el macho y hembra se comunican que fisiológicamente están aptos para copular, motivando el interés sexual del potencial compañero (Herber, 1972; citado por Sumar, 1991). La monta implica específicamente la intromisión o inserción del pene, los empujes pélvicos y la eyaculación.

El cortejo empieza cuando el macho al ser introducido en un rebaño de hembras, persigue a una de ellas al azar y trata de montarla. Si la hembra está en celo se dejará montar en pie, para luego sentarse y adoptar la posición de cópula, sentándose el macho justo un poco detrás de la hembra. Para lograr la introducción del pene, el macho ejecuta suaves movimientos pélvicos de aproximación y retiro, paralelo a ello se realizan movimiento de extensión y rotación del pene facilitando la intromisión del mismo por los labios vaginales. La máxima aproximación pélvica del macho apoyando gran parte de su peso sobre sus corvejones y la grupa suspendida a unos centímetros del suelo indicarían la completa intromisión del pene. La eyaculación parece tener lugar en el momento de aproximación pélvica máxima del macho, levantando ligeramente la cola. En estas circunstancias, los machos no prestan atención de lo que sucede a su alrededor, pudiendo aprovechar esto para verificar la introducción del pene o manipularlo (Fernández – Baca, 1991).

Kubicek, (1974); Sumar y Leyva (1981) citados por Sumar (1991), colectaron semen por fistula uretral y vagina artificial respectivamente observando que la eyaculación es un proceso intermitente, prolongado y sin fracciones. Y el lugar de deposición del semen en la hembra es intrauterino

alternando cada cuerno uterino durante el proceso continuo de eyaculación (Franco *et al.* 1981, citado por Novoa, 1991).

Franco *et al.* (1981), citado por Novoa (1991), determinaron a través de una laparotomía en la fosa del ijar derecho e introduciendo la mano a la cavidad pélvica durante la cópula, evidenciaron que el pene es introducido mediante movimientos semirrotatorios y suaves empujes pélvicos hacia el cuerno uterino que se alterna con el otro a intervalos irregulares donde el macho retira el pene ligeramente hasta la vagina, volviéndolo a introducir al cuerno uterino opuesto.

Bravo (2002), observó directamente el útero de alpacas que fueron sacrificadas a las 24 horas pos cópula. Encontrando hemorragias, edema e inflamación de los cuernos uterinos. Este proceso inflamatorio puede durar de 3 a 4 días, afectando probablemente la fertilidad de la hembra.

Las señales o indicaciones olfativas no son tan importantes en los machos camélidos para ubicar a la hembra en celo, de tal modo que el reflejo olfatorio o flehmen que sí es muy notorio en muchos ungulados, en los machos camélidos es débilmente perceptible. Una indicación visual que ayuda al macho a ubicar a la hembra receptiva en celo es cuando ésta adopta la posición de cópula. El macho durante la cópula emite sonidos guturales o ronquidos, inflando los carrillos, al parecer constituye una señal o estímulo auditivo para las hembras, muchas de las cuales se acercan y adoptan la posición recumbente cerca de la pareja en cópula (Fernández – Baca, 1991).

La variación del tiempo de cópula varía de acuerdo a muchos factores tales como edad, frecuencia de copulaciones en días precedentes, frecuencia de copulaciones en el día, individualidad, competencia entre machos, etc.

## 2. 2. 4. Características del Semen de Camélidos

La característica preponderante del semen de camélidos es su alta viscosidad y el método que ha permitido su colección es el uso de la vagina artificial y así realizar trabajos diversos en lo que respecta a la evaluación y definición de las principales características seminales (Sumar, 1983).

Bravo (1998) reporta que el semen es muy viscoso durante el primer eyaculado, cuando se hace colecciones sucesivas es de consistencia elástica y poco pegajoso parecida a la clara del huevo (Sumar, 1989; Caracila y Chiri, 2003); es semiviscoso a la tercera eyaculación y hasta líquido si la colección se hace con intervalos de 2 horas.

## 2. 2. 5. Plasma Seminal

### 2. 2. 5. 1. Bioquímica del Plasma Seminal

Garnica *et al.* (1993) estudió los componentes bioquímicos del plasma seminal mediante colección de semen usando vagina artificial. El semen fue centrifugado a 3000 rev/minuto durante 20 minutos antes de su análisis bioquímico encontrando los principales componentes analizados en la tabla 1.

**Cuadro 1. Componentes bioquímicos del plasma seminal de llamas y alpacas**

Componentes	Llama Adulta	Alpaca		Rango
		3 años	6 años	
Cloro (mEq/L)	402 ± 10	348 ± 32	404 ± 34	263 ± 491
Calcio (mg/dl)		19 ± 0,1	18 ± 0,3	13 ± 31
Fósforo inorgánico (mg/dl)	10 ± 0,2	12 ± 0,2	0,8 ± 0,4	0,7 ± 17
Glucosa (mg/dl)	0,6 ± 0,3	0,7 ± 0,4	0,5 ± 0,3	0,4 ± 0,8
Fructuosa (mg/dl)	0,4 ± 0,2		0,6 ± 0,1	0,3 ± 0,7
Lípidos (mg/dl)	106 ± 5	86 ± 10	95 ± 10	51 ± 115
Fosfolípidos (mg/dl)		29 ± 0,1	29 ± 0,1	27 ± 31
Nitrógeno total (mg/dl)	623 ± 23	548 ± 50	647 ± 32	308 ± 697
Proteínas totales (g/dl)	4 ± 0,1	0,3 ± 0,3	0,4 ± 0,2	0,3 ± 0,4
Albumina (g/dl)		0,2 ± 0,3	0,2 ± 0,2	0,1 ± 0,3
Globulinas (g/dl)		0,1 ± 0,1	0,2 ± 0,2	0,1 ± 0,3

Citado por Bravo, 1998

La

mayor parte de los componentes bioquímicos reportados en este estudio

parecen estar de acuerdo con resultados de otras especies de granja (Mann, 1964 citado por Garnica *et al.* 1993); sin embargo, lo que es necesario mencionar son las concentraciones pequeñas de fructuosa (4 – 6 mg/dl) y ácido cítrico (4.3 mg/dl). Se puede deber a la ausencia de vesículas seminales que sí están presentes en otros animales.

El 85% del volumen eyaculado es plasma seminal y el restante 15% está constituido por los espermatozoides. (Garnica *et al.* 1993)

Es necesario mencionar que la principal fuente de energía de los espermatozoides para su metabolismo son la glucosa (Mann, 1964, y Bravo, 1998) y fructuosa teniendo mayor afinidad por la primera al parecer en el caso de alpacas (Bravo, 1998).

Flores *et al.* (2002) estudiando las características del semen de alpacas previo a la época de monta determinó que la calidad del semen es pobre comparado a otras especies domésticas. También encontraron que el color más frecuente fue blanco opalescente en un 84.2%, tiempo de colección fue de  $12.3 \pm 7.2$  min, volumen eyaculado:  $1.8 \pm 0.8$  ml, concentración espermática:  $17.6 \pm 26.1 \times 10^6$  sperm/ml, concentración espermática total x eyaculado:  $34 \pm 52.2 \times 10^6$  porcentaje de espermatozoides normales:  $51 \pm 12.4\%$ , porcentaje pieza media segmentada: 14.4%. Sin embargo, para la evaluación del macho reproductor podría ser necesario crear un protocolo para la selección de ellos, donde aspectos de fenotipo, comportamiento y seminograma estén considerados.



## **2. 2. 5. 2. Factor Inductor de la Ovulación (FIO)**

Chen *et al.* (1985) señalan que la ovulación en la camella bactriana no es espontánea sino inducida por la deposición intravaginal de semen de camello obteniendo una tasa ovulatoria de 87.5%. No sucedieron ovulaciones cuando se inseminó sólo con espermatozoides. Este hallazgo condujo a pensar en un "Factor Inductor de la Ovulación (FIO) presente en el plasma seminal del camello ya que al inseminar intravaginalmente a 8 camellas, 6 ovularon (87%); factor que también puede estar presente en el semen de toro más no en el semen del macho cabrío y verraco. Asimismo concluyó que el lugar de absorción presumiblemente se trate de la vagina o el útero puesto que al colocar intrauterinamente el semen a 4 hembras, éstas también ovularon.

La posibilidad de la existencia de un FIO en el semen del camello llevó a sugerir que dicho FIO también podría estar presente en el semen de los camélidos dada la relación filogenética entre los camellos del viejo mundo y los del nuevo mundo. Así lo confirmó Ríos (1985), cuando realizó la inseminación intravaginal con deposición de 2ml semen de toro, 2 ml semen de alpaca y 2 ml de plasma seminal de alpaca, induciendo la ovulación en un 53.3%, 66.7% y 7.6% respectivamente. A pesar de haber encontrado una tasa ovulatoria de 7.6% con plasma seminal de machos vasectomizados sugirió que existe un factor inductor de la ovulación (FIO) en el semen de alpaca y toro más no en el plasma seminal de machos vasectomizados pero sí probablemente en el plasma seminal de machos enteros. Además no se produjo ninguna ovulación cuando depositó dentro de la vagina 2 ml de GnRH (0.008mg), pero sí se produjo ovulación en casi todos cuando se inyectó 2 ml de hCG (1000 UI) o GnRH (0.008mg)

Varios trabajos se realizaron con la finalidad de probar la capacidad del FIO para inducir la ovulación y efectivamente quedaba demostrado en mayor o menor grado cada estudio llevado a cabo.

Xu *et al.* (1985) investigaron la concentración hormonal antes y después de inducir la ovulación en camellas bactrianas (*Camelus bactrianus*) hallando que el efecto inductor sea por el semen o la monta natural provocaba claramente una oleada de LH cuyo pico fue a las 4 horas pos inducción y el tiempo de ovulación a las 30 – 48 horas. El mismo pico de LH pos inducción ovulatoria después de la monta fue reportado por Musa y Abusineína en 1978 (citado por Marie y Anouassi, 1986) y confirmado más tarde por Marie y Anouassi (1986).

Por su parte, Ciprián (2000) mediante inseminación intrauterina con plasma seminal logró la inducción de la ovulación en un 30% y 20% al cabo de 36 horas pos inseminación en alpacas y llamas respectivamente.

En camellos hembras la administración intramuscular de plasma seminal del camello macho y toro también inducen la ovulación (Bhasin y Swerdlof, 1984; Li *et al.* 1987; citados por Vásquez, 2005;). De forma similar López, (2004) obtuvo una tasa ovulatoria del 100% en alpacas cuando administró 2 ml vía intramuscular de plasma seminal de alpaca y llama y un 25% de ovulación con plasma seminal de toro.

La existencia de un factor inductor de ovulación (FIO) presente en el plasma seminal de alpacas y llamas fue demostrada por Adams, *et al.* (2005) quienes reportaron la presencia del factor inductor de ovulación al administrar plasma seminal vía intramuscular a llamas y alpacas hembras respectivamente, encontrando ovulación sólo en las hembras tratadas con plasma seminal vía intramuscular (13/14), mas no encontró ninguna ovulación cuando administró plasma seminal vía intrauterina (0/12) o PBS intramuscular (0/14) e intrauterino (0/12). También determinó que el plasma seminal y su efecto potente sobre la ovulación es mediado vía hipófisis al encontrar que los niveles circulantes de LH se mantienen por un periodo más largo (8 horas) después del tratamiento a diferencia de un grupo tratado con GnRH que mantuvo concentraciones séricas de LH hasta por 5.5 horas.

Hay estudios que se orientan a dilucidar la naturaleza del FIO cuya característica principal es su actividad similar a la GnRH dada su capacidad para estimular la oleada pre – ovulatoria de LH. Así lo sugirieron Alfuraiji y Moussa (1995) cuando inyectaron plasma seminal de camello en ratas y verificaron el incremento en tamaño y peso de las gónadas. Lo que sucede de manera similar por efecto de la GnRH. Contrario a ello, Paolicchi *et al.* (1999) para determinar si la actividad biológica del plasma seminal de alpaca es un estímulo similar a la GnRH para la producción de LH producido por células de la hipófisis, realizaron un experimento en el que células pituitarias de ratas bajo la presencia sólo de plasma seminal de alpaca encontraron una secreción de 44.5% LH frente a una secreción del 10% de LH cuando las mismas células eran tratadas con GnRH sintética, además de anticuerpos anti - GnRH. Con estos resultados logró determinar que en el plasma seminal de la alpaca existirían algunos factores diferentes de la GnRH que contribuirían a los mecanismos de secreción e inducir la ovulación en la hembra alpaca.

Pan *et al.* (2001), y Zhao *et al.* (2001) lograron aislar el factor inductor de ovulación del plasma seminal del camello por técnica de cromatografía, encontrando que el FIO es de naturaleza completamente diferente a la GnRH.

En alpacas, la investigación más reciente fue realizada por Vásquez (2005), quién separó el plasma seminal de alpaca en 4 fracciones en base al peso molecular (Menor a 5 KDa, entre 5 – 10 KDa, entre 10 y 30 KDa y Mayor a 30 KDa) y demostró un 100% de ovulación en alpacas que fueron tratadas con 1.5 ml de la fracción de plasma seminal con peso molecular mayor a 30Kda; sin embargo, la hormona hipotalámica GnRH es un decapeptido con peso molecular de 1183 Da (Hafez y Hafez, 2000). Además Vásquez (2005), también obtuvo un 100% de ovulación en aquellas tratadas con plasma seminal entero.

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3. 1. Lugar del Estudio**

El estudio se desarrolló en las instalaciones del Centro de Investigación y Producción (C.I.P.) – Quimsachata, anexo de la Estación Experimental ILLPA – INIA, ubicado a 4200 m.s.n.m, en el distrito de Santa Lucía, provincia de Lampa, departamento de Puno a 15°04' de latitud Sur y a 70°18' de longitud Oeste, entre los meses de enero y marzo de 2004.

#### **3. 2. Unidades Experimentales**

Se utilizaron 91 alpacas hembras adultas no lactantes  $\geq 4$  años de edad con historial reproductivo de haber tenido por lo menos un parto. La selección de las 91 hembras se basó en la presencia de un folículo  $\geq 7$ mm que fue detectado mediante un ecógrafo modelo ALOKA SSD 500 y un transductor lineal Modo B de 7.5 MHz. Todas las hembras fueron alimentadas en pastura natural y bajo las mismas condiciones.

### **3. 3. Obtención del plasma seminal**

Mediante colección de semen con vagina artificial desarrollada para estas especies (Sumar y Leyva, 1981, citado por Sumar, 1991) se obtuvo plasma seminal por centrifugación del eyaculado de 8 machos alpacas. El periodo de colección fue realizado durante 2 meses previo al experimento y se obtuvieron 10 eyaculaciones por cada macho y dos veces por semana. El eyaculado fue diluido 1:1 (v/v) con fosfato salino bufferado (PBS) y centrifugado a 1000 G (3000 rev/min) durante 20 minutos, para separar la fracción celular del plasma seminal. Luego de centrifugar los eyaculados, el sobrenadante plasma seminal, fue decantado y evaluado al microscopio para confirmar la ausencia de espermatozoides. El plasma seminal combinado de todos los machos fue almacenado en tubos Falcon de 20 ml y congelados a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su posterior utilización. El plasma seminal antes de ser congelado se le adicionó antibiótico sulfato de kanamicina para evitar contaminación de la muestra.

### **3. 4. Diseño Experimental**

#### **a) Sincronización de la onda folicular**

Usando la metodología descrita por Ratto *et al.* (2003) y así facilitar el manejo de las hembras en cada uno de los tratamientos se realizó la sincronización del desarrollo folicular ovárico administrándoles 5mg de LH (Lutropin – V Bioniche Animal Health, Belleville, ON, Canada) vía intramuscular para inducir la ovulación. La ovulación fue verificada 2 días después por ecografía transrectal en base al criterio de la desaparición del folículo dominante detectado previamente. Las hembras fueron ecografiadas a los 12 días posteriores a la inyección de LH en que ya existe el crecimiento de un nuevo folículo dominante ( $\geq 7\text{mm}$ ). Esto se realizó para verificar la homogeneidad del tamaño folicular y eliminar algún posible factor de variación en los grupos experimentales al iniciar los tratamientos. La sincronización de la onda folicular se realizó con el propósito de disponer folículos  $\geq 7\text{mm}$  en forma homogénea.

### **b) Aplicación de los tratamientos**

Doce días posteriores a la sincronización del estadio del desarrollo folicular ovárico, se realizó una segunda ecografía con la finalidad de evaluar folículos  $\geq 7\text{mm}$  y entonces las hembras fueron distribuidas al azar en 6 grupos experimentales. Cuadro 2

**Cuadro 2. Distribución de Grupos experimentales**

	<b>Plasma Seminal</b>	<b>PBS</b>
Administración Intramuscular (IM)	$G_1 = 16$	$G_2 = 15$
Administración Intrauterina (IU)	$G_3 = 16$	$G_4 = 15$
Administración Intrauterina con curetaje (IUC)	$G_5 = 15$	$G_6 = 14$

A cada hembra del grupo  $G_1$  se le administró 1.5 ml de plasma seminal (PS) vía inyección intramuscular, y las hembras del grupo  $G_2$ , 1.5ml de fosfato salino buferado (PBS) vía inyección intramuscular. Las hembras de los grupos  $G_3$  y  $G_4$  recibieron 1.5 ml de plasma seminal y 1.5 ml de PBS, respectivamente vía administración Intrauterina (IU) mediante la técnica de inseminación recto cervical con una pipeta o funda plástica, usada para inseminación artificial en vacas. Una vez realizada la sujeción de la cervix y el cuerno uterino por medio de la palpación rectal se introdujo la pipeta hacia uno de los cuernos uterinos, con la seguridad de estar en el cuerno uterino se depositó el plasma seminal o PBS por medio de una jeringa descartable adaptada en el extremo libre de la pipeta de inseminación. Seguidamente y sin retirar totalmente la pipeta de la cervix, ésta fue reintroducida hacia el cuerno uterino opuesto a la primera deposición de plasma seminal o PBS depositando luego el plasma seminal o PBS. Las hembras de los grupos  $G_5$  y  $G_6$  recibieron 1.5 ml de plasma seminal y 1.5 ml de PBS, respectivamente vía administración Intrauterina (IU) con curetaje\*, utilizando la misma técnica descrita en el tratamiento anterior con la particularidad de que una vez en el interior del cuerno uterino se realizó un

raspado suave con el extremo de la pipeta de inseminación en contacto con la mucosa uterina por espacio de 30 segundos, luego se depositaron los 1.5 ml de plasma seminal ( $G_5$ ) o 1.5 ml de PBS( $G_6$ ), por medio de una jeringa descartable adaptada en el extremo libre de la pipeta inseminadora. Seguidamente y sin retirar totalmente la pipeta de la cérvix, ésta fue reintroducida hacia el cuerno uterino opuesto a la primera deposición de plasma seminal o PBS, se realizó nuevamente el curetaje y luego se depositó el plasma seminal o PBS.

\* Curetaje: Acción mecánica de raspar levemente la mucosa uterina con el extremo de la pipeta que se encuentra en el interior del lumen uterino. Fue realizada con la finalidad de causar una leve lesión inflamatoria similar a la que ocasiona la fricción del pene del macho al momento de la cópula.

#### **d) Diagnóstico ecográfico de ovulación**

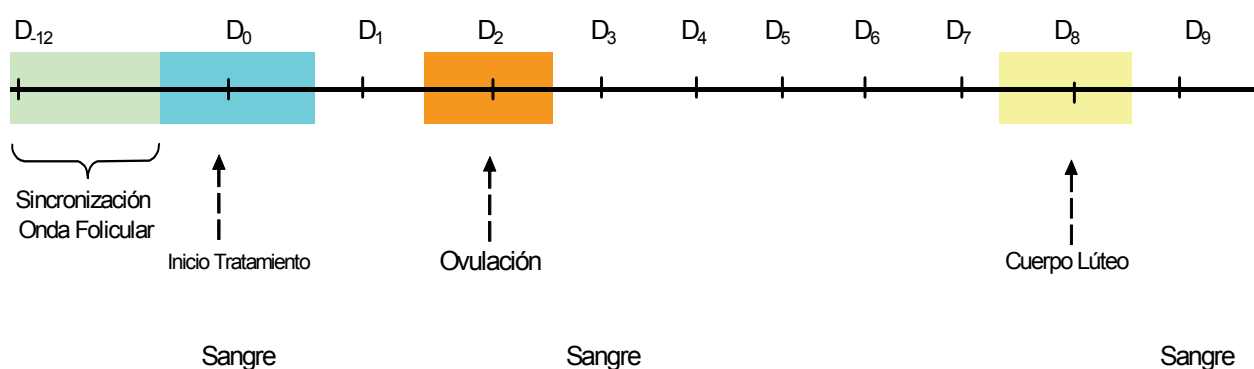
Para evaluar la tasa de ovulación como efecto del sitio de deposición de plasma seminal o PBS de acuerdo a las vías de administración utilizadas, se realizó el diagnóstico ecográfico a todas las hembras el día 2 ( $D_2$ ) ( $D_0$  = Inicio del tratamiento) para detectar la ovulación en base al criterio de la desaparición del folículo dominante observado en la ubicación de la masa ovárica detectado y medido previamente al inicio del tratamiento.

#### **e) Diagnóstico ecográfico de cuerpo lúteo**

Para confirmar la ovulación en las hembras cuyo folículo pre ovulatorio desapareció al examen ecográfico transrectal, se realizó nuevamente un diagnóstico ecográfico el día 8 ( $D_8$ ) con el fin de detectar la presencia y medir el tamaño del cuerpo lúteo. Las hembras que no ovularon también fueron ecografiadas para descartar algún posible error de visualización cuando todas fueron evaluadas para verificar la ovulación el día  $D_2$ .

#### f) Determinación hormonal de progesterona sérica (P<sub>4</sub>) por RIA

Se tomaron muestras de sangre al azar a cinco animales de cada uno de los 6 tratamientos los días D<sub>0</sub>, D<sub>3</sub> y D<sub>9</sub> y el suero obtenido por centrifugación fue almacenado en viales de 1.5 ml y congelados hasta su posterior uso para detectar niveles de progesterona mediante RIA.



**Figura 1. Diseño Experimental**

- D<sub>-12</sub> : Inyección de LH (Lutropin)
- D<sub>0</sub> : Evaluación ecográfica, inicio de tratamiento y 1° toma de sangre
- D<sub>2</sub> : Evaluación ecográfica para detectar ovulación
- D<sub>3</sub> : 2° toma de sangre
- D<sub>8</sub> : Evaluación ecográfica para detectar cuerpo lúteo
- D<sub>9</sub> : 3° toma de sangre



### **3. 5.      Análisis Estadístico**

Las variables evaluadas fueron: Tasa de ovulación y vías de administración. El análisis de los resultados se realizó mediante el programa estadístico STATA 8 aplicándose las pruebas:

- Chi - Cuadrado
- Regresión logística

## **IV. RESULTADOS**

### **4. 1. Tasa de Ovulación el día D<sub>2</sub> después de los tratamientos**

El cuadro 3 muestra que todas las hembras tratadas con plasma seminal ovularon en diferentes proporciones de acuerdo a la vía de administración utilizada en comparación con las hembras que recibieron PBS donde no hubo ninguna ovulación. La tasa de ovulación fue mayor en el grupo G<sub>1</sub>: 93.75%, un valor intermedio alcanzó el G<sub>5</sub>: 66.5% y el menor valor se registró en el grupo G<sub>3</sub>: 37.5% frente a un 0% en los grupos: G<sub>2</sub>, G<sub>4</sub> y G<sub>6</sub>. El análisis estadístico determinó que existe asociación ( $p = 0.004$ ) entre la ovulación y la vía de administración utilizada (Cuadro 3) y; el grupo G<sub>1</sub> y G<sub>5</sub> producirán 25 y 3.33 veces más ovulación que el grupo G<sub>3</sub>; sin embargo, sólo el grupo G<sub>1</sub> tiene significancia estadística (Anexo).

**Cuadro 3. Tasa de Ovulación el día D<sub>2</sub> como efecto de la administración intramuscular, intrauterina sin curetaje e intrauterina con curetaje de plasma seminal en los grupos G<sub>1</sub>, G<sub>3</sub>, G<sub>5</sub>, y de PBS en los grupos G<sub>2</sub>, G<sub>4</sub> y G<sub>6</sub>.**

	Plasma Seminal					PBS				
	Grupo	n	Ovulación		% Ovulación	Grupo	n	Ovulación		% Ovulación
			Sí	No				Sí	No	
Administración Intramuscular	G <sub>1</sub>	16	15	1	93,75*	G <sub>2</sub>	15	–	15	0
Administración Intrauterina	G <sub>3</sub>	16	6	10	37,5*	G <sub>4</sub>	15	–	15	0
Administración Intrauterina con curetaje	G <sub>5</sub>	15	10	5	66,7*	G <sub>6</sub>	14	–	14	0

\*Existe asociación entre los grupos (p=0,004)

#### 4. 2. Tamaño del Folículo el D<sub>0</sub> al inicio de los Tratamientos

Todos los grupos experimentales al día D<sub>0</sub> presentaron folículos  $\geq 7\text{mm}$  de diámetro, tamaño adecuado para la ovulación presente en todos los grupos. Los valores promedios y desviaciones estándar de los folículos en los grupos se observan en el cuadro 4.

**Cuadro 4. Diámetro del folículo dominante (mm) el D<sub>0</sub> en los grupos G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, G<sub>3</sub>, G<sub>4</sub>, G<sub>5</sub> y G<sub>6</sub> al inicio de los tratamientos.**

Grupo	Tratamiento	Diámetro Folículo (mm)
		Promedio $\pm$ D.S.
G <sub>1</sub>	Administración Intramuscular de Plasma Seminal	8.1 $\pm$ 1.3
G <sub>2</sub>	Administración Intramuscular de PBS*	8.2 $\pm$ 1.7
G <sub>3</sub>	Administración Intrauterina de Plasma Seminal	7.9 $\pm$ 1.1
G <sub>4</sub>	Administración Intrauterina de PBS*	7.7 $\pm$ 1.3
G <sub>5</sub>	Administración Intrauterina con curetaje de Plasma Seminal	8.7 $\pm$ 1.0
G <sub>6</sub>	Administración Intrauterina con curetaje de PBS*	7.6 $\pm$ 1.1

\*PBS: Fosfato buffer salino

#### 4. 3. Tamaño del Cuerpo Lúteo el día D<sub>8</sub> después de los tratamientos

El diámetro del cuerpo lúteo formado a consecuencia del fenómeno de la ovulación fue observado en los grupos G<sub>1</sub>, G<sub>3</sub> y G<sub>5</sub>. En el grupo G<sub>1</sub> el diámetro del cuerpo lúteo fue  $9.5 \pm 1.10$  mm, el grupo G<sub>3</sub> registró un diámetro de  $9.8 \pm 0.28$  mm y el grupo G<sub>5</sub>, un promedio de  $8.8 \pm 1.0$  mm. No se detectó cuerpo lúteo en ninguno de los grupos G<sub>2</sub>, G<sub>4</sub> y G<sub>6</sub> que no ovularon al recibir PBS (Cuadro 5).

**Cuadro 5. Diámetro del cuerpo lúteo (mm) el día D<sub>8</sub> como efecto de la ovulación después de la administración de plasma seminal vía intramuscular, intrauterina sin curetaje e intrauterina con curetaje en los grupos G<sub>1</sub>, G<sub>3</sub> y G<sub>5</sub>.**

	Plasma Seminal				PBS		
	Grupo	n	Ovularon	Diám. CL (mm)	Grupo	n	Ovularon
				Promedio $\pm$ D.S.			
Administración Intramuscular	G <sub>1</sub>	16	15	$9.5 \pm 1.10$	G <sub>2</sub>	15	–
Administración Intrauterina	G <sub>3</sub>	16	6	$9.8 \pm 0.28$	G <sub>4</sub>	15	–
Administración Intrauterina con curetaje	G <sub>5</sub>	15	10	$8.8 \pm 1.0$	G <sub>6</sub>	14	–

#### 4. 4. Determinación de progesterona sérica (P<sub>4</sub>) por RIA los días D<sub>0</sub>, D<sub>3</sub> y D<sub>9</sub>

Adicionalmente, la determinación de perfil hormonal de progesterona sérica presentó concentraciones de progesterona que fueron no detectables o basales los días D<sub>0</sub> y D<sub>3</sub>. La concentración de progesterona incrementó hacia el D<sub>9</sub> en los grupos G<sub>1</sub>: 4.45 ± 2.09 ng/ml; G<sub>3</sub>: 3.07 ± 2.79 ng/ml y G<sub>5</sub>: 1.25 ± 1.18 ng/ml. Asimismo, no se determinó concentración de progesterona en los grupos G<sub>2</sub>, G<sub>4</sub> y G<sub>6</sub> (Cuadro 6).

**Cuadro 6. Concentración de progesterona sérica (ng/ml) en hembras alpacas tratadas con plasma seminal y PBS vía intramuscular, intrauterina e intrauterina con curetaje los días D<sub>0</sub>, D<sub>3</sub> y D<sub>9</sub>**

Grupos	Nº muestras tomadas	Progesterona sérica (ng/ml)		
		D <sub>0</sub>	D <sub>3</sub>	D <sub>9</sub>
G <sub>1</sub>	5 <sup>a</sup>	0	0	4,45 ± 2,09
G <sub>3</sub>	6 <sup>b</sup>	0	0	3,07 ± 2,79
G <sub>5</sub>	5 <sup>c</sup>	0	0	1,25 ± 1,18
G <sub>2</sub>	5	0	0	0
G <sub>4</sub>	5	0	0	0
G <sub>6</sub>	5	0	0	0

- <sup>a</sup>) De las cinco muestras tomadas en  $G_1$  todas corresponden a hembras que ovularon en respuesta a la administración de plasma seminal vía intramuscular.
- <sup>b</sup>) De las seis muestras tomadas en  $G_3$ , sólo dos muestras corresponden a hembras que ovularon y las cuatro restantes a hembras que no ovularon a la administración de plasma seminal vía intrauterina. Por lo tanto, la determinación de progesterona de muestras pertenecientes a hembras que no ovularon presentó valores basales y sólo se tomó el promedio de las 2 muestras que ovularon.
- <sup>c</sup>) De las cinco muestras en el grupo  $G_5$ , sólo cuatro pertenecen a hembras que ovularon y una muestra pertenece a una hembra que no ovuló a la administración de plasma seminal vía intrauterina con curetaje. Por lo tanto, se tomó el promedio de progesterona de las 4 muestras que ovularon.

## V. DISCUSIÓN

Las investigaciones hasta ahora realizadas han demostrado efectivamente que existe un factor inductor de la ovulación (FIO) en el plasma seminal de la alpaca, llama y camello macho capaz de inducir la ovulación en las hembras de los camélidos (Ríos, 1985; Chen *et al.* 1985; Ciprián, 2000; López, 2004; Adams *et al.* 2005 y Vásquez, 2005). López (2004), Adams *et al.* (2005) y Vásquez (2005), lograron una tasa de ovulación del 100% al administrar plasma seminal vía intramuscular. Mientras que Ciprián (2000), encontró un 20 – 30% de ovulación al depositar plasma seminal por la vía intrauterina en llamas y alpacas respectivamente.

Los resultados del presente estudio señalan que la deposición del plasma seminal por la vía intramuscular alcanzó una tasa ovulatoria del 93.75%, lo que confirma los estudios previos en llamas (López, 2004; Adams *et al.* 2005 y Vásquez, 2005) y alpacas (Adams *et al.* 2005) con un 100% de ovulación. Efecto similar es reportado en la camella al administrarle vía intramuscular el plasma seminal del camello macho (Bhasin y Swerdlof, 1984; Li *et al.* 1987; citados por Vásquez, 2005).



La deposición del plasma seminal vía intrauterina con curetaje alcanzó una tasa ovulatoria de 66.70%, superior al alcanzado en la vía intrauterina sin curetaje (37.5%) e inferior frente a la administración intramuscular (93.75%).

Considerando las características de la cópula en los camélidos sudamericanos en un estudio realizado por Franco *et al.* (1981), citado por Novoa, (1991) determinaron que el lugar de deposición del semen en una monta natural es intracornual y donde el pene del macho mediante movimientos semirrotatorios y suaves empujes pélvicos introduce el pene hacia uno de los cuernos uterinos y luego lo retira ligeramente hacia la vagina reintroduciéndolo hacia el cuerno uterino opuesto, alternándolos a intervalos irregulares. En el proceso, la mucosa uterina sufre leve irritación por la fricción que el pene realiza. Bravo (2002), observó en alpacas sacrificadas a las 24 horas pos cópula la presencia de hemorragias, edema e inflamación de los cuernos uterinos. Por lo tanto, es posible que la irritación endometrial causada por la cópula facilitara la rápida y mejor absorción del plasma seminal a nivel de la mucosa uterina. Lo que sugiere para nuestro estudio que el curetaje realizado sobre la mucosa uterina estaría facilitando aunque en un grado inferior pero de acción similar a la mejor absorción del plasma seminal con la ayuda probablemente de otros factores presentes en el medio aún no determinados.

La deposición del plasma seminal vía intrauterina sin curetaje obtuvo una tasa de ovulación del 37.5% (6/16) similar a lo reportado por Ciprián (2000), cuando administró plasma seminal vía intrauterina encontrando una tasa ovulatoria de 30% y 20% en alpacas y llamas, respectivamente. La tasa de ovulación probablemente se explica por una insuficiente absorción del factor inductor de ovulación, debido a que la administración del plasma seminal se realizó sólo mediante deposición intrauterina sin curetaje. Sin embargo, la tasa de ovulación determinada sugiere que, aún cuando no se realizó una acción mecánica de irritación, el proceso de introducir la pipeta posiblemente ocasione en menor grado una leve irritación. Estos resultados contrastan con los hallados por Adams, *et al* (2005) quien reporta 0.0% de ovulación en 12

alpacas hembras tratadas con plasma seminal vía intrauterina pero la deposición fue realizada a nivel del cuerpo del útero y no intracornual.

El presente estudio sugiere que la absorción del plasma seminal se realiza vía sistémica, como lo demuestra el 93.75% de ovulación obtenido en el grupo que recibió plasma seminal vía intramuscular y la menor tasa de ovulación en los grupos con administración de plasma seminal vía intrauterina con curetaje (66.5%) y vía intrauterina sin curetaje (37.5 %). Por lo tanto, existe asociación entre la vía de administración del plasma seminal sobre el efecto ovulatorio.

Al realizar el análisis de regresión logística (Anexo) se determina que la probabilidad de ovulación del grupo  $G_1$  será 25 veces más y el  $G_5$ , 3.33 veces más, respecto al  $G_3$ ; sin embargo, hay que señalar que solamente el  $G_1$  presenta diferencia estadísticamente significativa.

Las hembras que no ovularon con la deposición de plasma seminal vía intrauterina con curetaje ( $n = 5$ ) y las hembras que no ovularon en el grupo con la deposición del plasma seminal vía sólo intrauterina ( $n = 10$ ) puede ser explicado por el curetaje como una acción mecánica sobre la mucosa uterina que estaría facilitando la absorción sistémica del factor inductor de ovulación presente en el plasma seminal. Asimismo, estos resultados confirman las bajas tasas de ovulación encontradas por Ciprián (2000), al administrar plasma seminal por vía intrauterina obteniendo un 20 y 30% de ovulación en llamas y alpacas, respectivamente; Ríos (1985), al depositar plasma seminal vía intravaginal con 7.6% de ovulación en alpacas y; Adams, *et al* (2005) con 0% de ovulación (0/12) al administrar vía intrauterina plasma seminal en alpacas hembras.

El fenómeno ovulatorio es mediado por la hipófisis mediante una oleada pre ovulatoria de LH, así lo demostró Adams, *et al* (2005) al analizar la concentración plasmática de LH en alpacas hembras tratadas con plasma seminal vía intramuscular, encontrando que los niveles de LH incrementan una hora después de la intramuscular de plasma seminal y permaneciendo con

niveles constantes hasta un periodo de 8 horas en que empezó a disminuir su concentración circulante.

Si consideramos el tamaño del folículo ovulatorio al inicio de los tratamientos ( $D_0$ ), como un posible factor de variación, hay que indicar que el tamaño fue adecuado y similar para la ovulación en todos los grupos ( $\geq 7\text{mm}$ ) (Cuadro 3).

Al respecto, Bravo (2002), señala que la ovulación de un folículo pre ovulatorio se produce cuando el folículo adquiere un diámetro mayor o igual a 7 mm y que si el estímulo para inducir la ovulación se da cuando el folículo se encuentra en fase de crecimiento o en regresión pues la liberación de LH no es la adecuada para desencadenar la ovulación. Las concentraciones elevadas de estrógenos producidas por el folículo dominante activan el centro hipotalámico para la liberación pulsátil de GnRH, estimulando luego sobre los receptores de las células gonadotrofas en la hipófisis anterior la síntesis y secreción pulsátil de LH e inducir la ovulación (Hafez y Hafez, 2000).

La presencia del cuerpo lúteo confirma la ovulación después de la cópula o la administración de hormonas con actividad LH (Bravo *et al.* 1990a; Fernández – Baca *et al.* 1970b). En el presente estudio el cuerpo lúteo fue posible detectarlo el  $D_8$  (tomando como  $D_0$  el inicio del tratamiento) por la ocurrencia de ovulación como respuesta a los tratamientos de la administración intrauterina sin curetaje, con curetaje e inyección intramuscular de plasma seminal. El tamaño del cuerpo lúteo medido con ayuda de la ultrasonografía transrectal, el día 8 pos tratamiento, tiene referencia en el estudio previo de Adams *et al.* (1991) en llamas no preñadas que ovularon, y pudo detectar tempranamente el cuerpo lúteo a los  $3.1 \pm 0.2$  días pos ovulación y el crecimiento máximo del cuerpo lúteo a los  $5.9 \pm 0.3$  días pos ovulación, seis días después de la ovulación correspondiente al  $D_8$  en que fue medido el cuerpo lúteo en nuestro estudio.

Sumar *et al.* (1988) citado por Bravo (2002), reportaron que el cuerpo lúteo crece rápidamente de 7 mm de diámetro el día 3 pos monta a 10 – 12 mm el día 7 a 8 después del servicio, valores similares a los hallados en el presente

estudio. Los grupos G<sub>2</sub>, G<sub>4</sub>, y G<sub>6</sub> que recibieron administración de PBS vía intramuscular, intrauterina sin curetaje e intrauterina con curetaje no ovularon en ninguno de ellos y tampoco se detectó cuerpo lúteo. Lo mismo encontraron López (2004), Vásquez (2005) y Adams *et al.*, (2005) al inyectar solución salina de PBS a alpacas hembras no encontrando ovulación ni cuerpo lúteo en ningún caso. Estos resultados negativos a la ovulación cuando los animales fueron tratados con PBS respaldan los hallados en las hembras tratadas con plasma seminal y permiten explicar en parte la acción del plasma seminal (FIO) en la inducción de la ovulación.

La concentración de progesterona fue variable de acuerdo a la condición de la hembra muestreada (ovuló o no ovuló). Las hembras que ovularon con la administración de plasma seminal expresaron el D<sub>9</sub> concentraciones altas de progesterona G<sub>1</sub>:4.45 ± 2.09 ng/ml, G<sub>3</sub>:3.07 ± 2.79 ng/ml y G<sub>5</sub>:1.25 ± 1.18ng/ml mientras que las hembras que no ovularon de los mismos grupos y las hembras tratadas con PBS mantienen sus niveles basales o cercanos a cero ng/ml. Al respecto, Sumar (1988) citado por Bravo (2002), determinó que una concentración de progesterona ≥1ng/ml a los 7 días pos servicio indica ovulación y actividad luteal (Cuadro 6).

En base a los resultados del presente estudio se confirma la presencia del factor inductor de ovulación (FIO) en el plasma seminal de alpacas confirmando el fenómeno ovulatorio mediante ultrasonografía, en base al criterio de la desaparición del folículo previamente determinado y que se confirma posteriormente con la detección del cuerpo lúteo. El mecanismo de acción del factor inductor de ovulación aún es desconocido, pero es probable que su acción la esté ejerciendo a nivel del ovario directamente o a nivel de las neuronas productoras de GnRH que en el caso de las ovuladoras inducidas sea probablemente el principal signo neural excitador para inducir la oleada pre ovulatoria de LH en estas especies (Bakker y Baum, 2000).

Los estudios realizados en los camellos bactrianos han permitido el aislamiento y la purificación de la proteína inductora de ovulación (Pan *et al*,

2001, Zhao *et al*, 2001), lo que aún no sucede en el caso de los camélidos sudamericanos como la llama y la alpaca. Estas limitaciones hacen necesaria seguir en la búsqueda de información científica mediante el desarrollo de investigaciones futuras que permitan comprender y explicar el probable mecanismo de acción, la composición bioquímica, y sus efectos sobre el sistema endocrino y fisiológico de alpacas y llamas hembras.

Los resultados del presente estudio permiten sugerir que la acción del factor inductor de ovulación (FIO) presente en el plasma seminal de la alpaca es vía sistémica, como lo demuestra la administración intramuscular y que los diferentes grados de absorción del factor inductor de ovulación con la administración intrauterina sin curetaje e intrauterina con curetaje sugieren que el sitio probable de absorción del FIO se realiza a nivel de la mucosa uterina, siendo el curetaje una acción mecánica que facilitaría la absorción vía sistémica del factor inductor de ovulación (FIO) incrementando el efecto ovulatorio del plasma seminal.

## **VI. CONCLUSIONES**

- Existe asociación entre la vía de administración de plasma seminal sobre la tasa de ovulación.
- El curetaje realizado a nivel endometrial facilitaría la absorción del factor inductor de ovulación incrementando el efecto ovulatorio del plasma seminal.

## **VII. RECOMENDACIONES**

- Para fines de inseminación artificial en camélidos sudamericanos se requiere realizar estudios en los protocolos de inducción de ovulación, la administración del plasma seminal vía intramuscular para inducir la ovulación en las hembras.

## VIII. LITERATURA CITADA

**Aba, M.A.; H. Kindahl; M. Forsberg; M. Quiroga; M. Auza.** 2000. Levels of progesterone and changes in prostaglandin ( $\text{PGF}_{2\alpha}$ ) release during luteolysis and early pregnancy in llamas and the effect of treatment with flunixin meglumine. *Anim Reprod Sci.* 59 (1-2): 87 – 97

**Aba, M.A.; M. Forsberg; H. Kindahl; J. Sumar; L.E. Edqvist.** 1995. Endocrine changes after mating in pregnant and non-pregnant llamas and alpacas. *Acta Vet Scand.* 36 (4): 489 – 498

**Aba, M.; P. Bravo; M. Forsberg; H. Kindahl.** 1997. Endocrine changes during early pregnancy in the Alpaca. *Anim Reprod Sci.* 47(7): 273 – 279

**Adams, G.P; M. Ratto; W. Huanca; J. Singh.** 2005. Ovulation-Inducing Factor in the Seminal Plasma of Alpacas and Llamas. *Biol Reprod.* 73: 452 – 457

**Adams, G.P.** 1995. Sex, Ultrasound and the female llama. In *Exotic Animal Medicina.* p: 332 – 342.



**Adams, G.P.; J. Sumar; O.J. Ginther.** 1991. Form and function of the corpus luteum in llamas. *Anim Reprod Sci* 24: 127 – 138.

**Adams, G.P.; J. Sumar; O.J. Ginther.** 1990. Effects of lactational and reproductive status on ovarian follicular waves in llamas. *J Reprod Fertil* 90: 535 – 545.

**Adams, G.P.; P. Griffin; O. Ginther.** 1989. In situ morphologic dynamics of ovaries, uterus and cervix in llamas. *Biol Reprod* 41(3): 551 – 558.

**Alfuraiji, M.; I. Moussa.** 1995. Gonadotropin – Releasing Hormone – Like Factors in the seminal plasma of the dromedary camel (*Camelus dromedarius*). *Theriogenology* 43 (1): 154

**Aller, J.F.; A.K. Canicno; G. Rebuffi; R.H. Alberio.** 1999. Inducción de la Ovulación en llamas. II Congreso Mundial sobre Camélidos. Cusco. Libro de Resúmenes. p: 91

**Arthur, G.** 1991. Reproducción y Obstetricia en Veterinaria. Interamericana McGraw – Hill. Madrid. p: 5 – 7

**Bakker, J.; M. Baum.** 2000. Neuroendocrine regulation of GnRH release in induced ovulators. *Neuroendocrinology* 21: 220 – 262

**Bourke, D.; G. Adams; C. Kyle.** 1992. Ultrasonography as an aid to controlled breeding in the llama (*Lama glama*). *Vet Rec.* 130: 424 – 428.

**Bravo, W.P.** 2002. The Reproductive Process of South American Camelids. Ed. Framagann Graphics, Patti eddington. UT. USA. 100p

**Bravo, W.P.; M. Mayta.** 2000. Growth of the conceptus in alpacas. Amer J Vet Res 61(12): 1508 – 1511.

**Bravo, W.P.** 1998. Avances en la fisiología reproductiva del macho llama y alpaca. XXII Reunión Científica Anual de la APPA. UNA – Puno. Octubre. p: 15 – 21.

**Bravo, P.W.; G.H. Stabenfeldt; B. Lasley; M.E. Fowler.** 1991. The effect of ovarian follicle size on pituitary and ovarian responses to copulation in domesticated South American camelids. Biol Reprod. 45: 553 – 559.

**Bravo P.W.; M.E. Fowler; G.H. Stabenfeldt.** 1990a. Endocrine responses in the llama to copulation. Theriogenology 33: 891 - 899

**Bravo, W.P.; M.E. Fowler; G.H. Stabenfeldt.** 1990b. Ovarian follicular dynamics in the llama. Biol reprod. 43: 579

**Bravo, P.W; J. Sumar.** 1989. Laparoscopic examination of the ovarian activity in alpacas. Anim Reprod Sci 21: 271 – 281.

**Bravo, P.W.; M.E. Fowler.** 1988. La aplicación de la técnica de ultrasonografía en alpacas y llamas. Proc VI Convención Internacional de Especialistas en Camélidos Sudamericanos. Oruro, Bolivia. Febrero

**Brooks, J.; A. McNeilly.** 1996. Regulation of gonadotrophin-releasing hormona receptor expresión in the ewe. Anim Reprod Sci. 42: 89 – 98.

**Bustinza, V.** 2001. La Alpaca: Conocimiento del gran potencial andino. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia – UNA. 496p

**Calle, R.** 1982. Producción y Mejoramiento de la alpaca. Fondo del libro Banco Agrario del Perú.

**Caracila, F.; R. Chiri.** 2003. Evaluación Química del plasma seminal en llamas kh'ara y th'ampulli. III Congreso Mundial sobre Camélidos y I Taller Internacional de DECAMA. Potosí, Bolivia. p: 91 – 94.

**Cárdenas, O.; M. Ratto; A. Cordero; W. Huanca.** 2001. Determinación de la fertilidad en llamas con un servicio, mediante conducta sexual y ecografía. Rev. Inv. Pec. Suplemento 1: 467 – 469. XXIV Reunión Científica Anual Peruana de Producción Animal. FMV – UNMSM.

**Chen, B.X.; Z.X. Yuen; G.W. Pan.** 1985. Semen – induced ovulation in the bactrian camel (*Camelus bactrianus*). J Reprod Fert. 73: 335 – 339.

**Chuna, P.; V. Leyva; V. Franco.** 1999. Adherencias pene – prepuciales y niveles de testosterona circulantes en alpacas. Rev Inv vet Perú. 10(2): 11 – 16.

**Ciprian, A.** 2000. Efecto del plasma seminal como factor de ovulación en alpacas y llamas. Tesis de Médico veterinario y Zootecnista. FMVZ – UNA. Puno. p: 57

**England, B.G.; W.C. Foote; D.H. Matthews; A.G. Gardozo; S. Riera.** 1969. Ovulation and Corpus Luteum Function in The Llama (*Lama glama*). J Endocri. 45: 505 – 513

**Fernández – Baca, S.** 1993. Manipulation of reproductive functions in male and female New World camelids. Anim Reprod Sci. 33: 307 – 323.

**Fernández – Baca, S.** 1991. Avances y Perspectivas del conocimiento de los Camélidos Sudamericanos. FAO. Chile. 429p

**Fernández – Baca, S.; J. Sumar; C. Novoa.** 1972. Comportamiento sexual de la alpaca macho frente a la renovación de las hembras. Rev Inv Pec. Perú. 1(2); 115 – 228.

**Fernández – Baca, S.** 1971. La alpaca, reproducción y crianza. Boletín de Divulgación N° 7. IVITA – UNMSM. Perú.

**Fernández – Baca, S.; D.H.L. Madden; C. Novoa.** 1970a. Effect of different mating stimuli on induction of ovulation in the alpaca. J Reprod Fert. 22: 261 – 267.

**Fernández – Baca, S.; W. Hansel; C. Novoa.** 1970b. Corpus luteum function in the alpaca. Biol Reprod. 3: 252 – 261.

**Fernández – Baca, S.; W. Hansel; C. Novoa.** 1970c. Embryonic mortality in the alpaca. J Biol Reprod. 3: 252 – 261.

**Fernández – Baca, S.; C. Novoa.** 1968. Conducta sexual de la alpaca (*Lama pacos*) en empadre a campo. Memorias ALPA. 3: 7-20. En: Resúmenes de las investigaciones del IVITA en CSA. Ed. M. Rojas,. Publicación IVITA N° 25.

**Fernández – Baca, S.** 1968: Estudios sobre la Reproducción en la Alpaca (*Lama pacos*). 3er Boletín Extraordinario. IVITA. Lima. pp: 33 – 42.

**Fernández – Baca, S.** 1967. Algunos aspectos de la reproducción de la alpaca. Boletín Extraordinario – IVITA N° 2: 72 – 74. FMV – UNMSM. Lima

**Flores, P.; J. García – Huidobro; C. Muñoz; E. Bustos – Obregón; B. Urquieta.** 2002. Alpaca semen characteristics previous to a mating period. Anim Reprod Sci. 72 (3 - 4): 259 – 266.

**Galloway, D.B.** 1997. Some aspects of male reproductive physiology. Memorias: 1° Symposium Internacional “Avances en Reproducción de Rumiantes”. 17 – 18 de julio. APPA. FMV – UNMSM. p: 8 – 17

**García, A; F. Castejón; L. De La Cruz; J. González; M. Murillo; G. Salido.** 1995. Fisiología Veterinaria. Editorial Interamericana McGraw – Hill. Madrid - España.

**Garnica, J.; R. Achata; W. Bravo.** 1993. Physical and biochemical characteristics of alpaca semen. Anim Reprod Sci. 32: 85 – 90.

**Hafez, E.; B. Hafez.** 2000. Reproducción e Inseminación Artificial en Animales. 7<sup>ma</sup> Edición. Editorial Interamericana McGraw – Hill. México. 519 pp.

**Hamernik, D.L.** 1995. Molecular Biology of gonadotrophins. J Reprod Fertil. Supplement 49: 257 – 269.

**Huanca, W.; O. Cárdenas; C. Olazábal; M. Ratto; G. Adams.** 2001. Efecto hormonal y empadre sobre el intervalo a la ovulación en llamas. Rev Inv Pec. Suplemento 1: 462 – 463. XXIV Reunión Científica Anual Peruana de Producción Animal. FMV – UNMSM.

**Illera, M.** 1994. Reproducción de los animales domésticos. Editorial AEDOS. Barcelona – España. 390 pp.

**Kinder, J.E.; E.G.M. Bergfeld; M.E. Wehrman; K.E. Peters; F.N. Kojima.** 1995. Endocrine basis for puberty in heifers and ewes. J Reprod Fertil. Supplement 49: 393 – 407

**Leyva, V.; W. García.** 1999a. Efecto de la Progesterona exógena sobre la función del cuerpo lúteo de alpacas. II Congreso Mundial sobre camélidos. Cusco. Libro de Resúmenes. p: 87

**Leyva, V.; W. García.** 1999b. Efecto de la Prostaglandina PGF<sub>2</sub> $\alpha$  sobre la vida del cuerpo lúteo en alpacas. II Congreso Mundial sobre camélidos. Cusco. Libro de Resúmenes. p: 88

**Leyva, V.; J. Sumar.** 1981. Evaluación del peso corporal al empadre sobre la capacidad reproductiva de hembras alpaca de un año de edad. En: Resúmenes de Proyectos de Investigación realizados por la UNMSM (1980 – 1981). Tomo III.

**López, A.** 2004. Inducción de la ovulación en llamas mediante la administración intramuscular del plasma seminal proveniente de llama, alpaca y bovino. Tesis de Médico Veterinario. FMV – UNMSM. Lima – Perú. 41p

**Losno, W.; J. Coyotupa.** 1981. Niveles de testosterona sérica post coito en alpacas adultas. Resum Proyect Invest realizadas por la UNMSM. 1975 – 1979. N° 2: 114. Lima.

**Marie, M.; A. Anouassi.** 1986. Mating-Induced Luteinizing Hormone Surge and Ovulation in the Female Camel (*Camelus dromedarius*). Biol Reprod 35: 792-798

**Miragaya, M.H.; M.A. Aba; E.F. Capdevielle; M.S. Ferrer; M.G. Chavez; B. Rutter; A. Agüero.** 2004. Follicular activity and hormonal secretory profile in cuna (*Vicugna vicugna*). Theriogenology. 61(4): 663 – 671.

**Novoa, C.** 1991. Fisiología de la reproducción de la hembra. En: Avances y perspectivas del conocimiento de los camélidos sudamericanos. Cap. III. S. Fernández – Baca. FAO. p 91 – 109. Chile.

**Novoa, C.** 1989. Reproducción. Simposio: Producción de Alpacas y Llamas. XII Reunión científica anual de la Asociación Peruana de Producción Animal (APPA). p: 67 – 73

**Novoa, C.; V. Leyva.** 1996. Reproducción en alpacas y llamas. Publ. Cient. IVITA N° 26. IVITA – FMV. UNMSM. 32p

**Novoa, C.; S. Fernández – Baca; J. Sumar; V. Leyva.** 1972. Pubertad en la Alpaca. Rev Inv Pec. 1: 29 – 35. Enero – Junio. IVITA. UNMSM – FMV. 39 p

**Pan, G.; Z. Chen; X. Liu; D. Li; W. Wie; F. Ling; L. Fang.** 2001. Isolation and purification of the ovulation – inducing factor from seminal plasma in the Bactrian camel (*Camelos bactrianus*). Theriogenology 55: 1863 – 1879.

**Paolicchi, F.; B. Urquieta; L. Del Valle; E. Bustos – Obregón.** 1999. Biological activity of the seminal plasma of alpacas: stimulus for the production of LH by pituitary cells. Anim Reprod Sci. 54 (3): 203 –210.

**Parraguez, V.; S. Cortéz; G. Gazitúa; V. MacNiven; L. Raggi.** 1997. Early pregnancy diagnosis in alpaca (*Lama pacos*) and llama (*Lama glama*) by ultrasound. Anim reprod Sci. 47: 113 – 121.

**Ratto, M.; J. Sing; W. Huanca; G. Adams.** 2003. Follicular wave synchronization and pregnancy rater alter fixed – time natural mating in llamas. Theriogenology 60: 1645 – 1656.

**Ríos, M.** 1985. Presencia de un factor de inducción de la ovulación en el semen de alpaca y toro. Tesis de Médico Veterinario. FMV – UNMSM. Lima, Perú. 30p

**Rodríguez, R.** 1959. Ovulación en las alpacas. Tesis de Bachiller en Medicina Veterinaria. FMV – UNMSM. Lima – Perú. 21p

**San Martín, M.; M. Copaira; J. Zúñiga; R. Rodríguez; G. Bustinza; L. Acosta.** 1968. Aspects of reproduction in the alpaca. J Reprod Fert. 16: 395 – 399.

**Santiani, A.; V. Leyva; W. García.** 2001. Regulación de la onda folicular ovárica en llamas mediante el uso de progesterona. Rev Inv Pec. Suplemento 1: 439 – 441. XXIV Reunión Científica Anual Peruana de Producción Animal. FMV – UNMSM.

**Schams, D.; E. Schallenberger; S. Gombe; H. Kart.** 1981. Endocrine patterns associated with puberty in male and female cattle. J Reprod Fertil. Supplement 30: 103 – 110

**Senger P.** 2004. Pathways to Pregnancy and Parturition. Primera edición. Current Conceptions, Inc. Washington State University Research & Technology Park. USA

**Smith, C.L.; A.T. Peter; D.G. Pugh.** 1994. A Review: Reproduction in llamas and alpacas. Theriogenology 41: 573 – 592.

**Sumar, J.** 2000. Llamas and Alpacas. In: Reproduction in Farm Animals. Chapter 15. E.S.E. Hafez. 7<sup>ma</sup> edition. Lippincott Williams & Wilkins.



**Sumar, J.** 1997. Avances y perspectivas en reproducción de camélidos. In: Memorias del 1er Symposium Internacional “Avances en Reproducción de Rumiantes”. 17 – 18 de julio. APPA. FMV – UNMSM.

**Sumar, J.** 1993. Efectos de los estímulos de inducción en la ovulación de alpacas y llamas. Rev Pec Inv IVITA 6(1): 17 – 21. FMV – UNMSM.

**Sumar, J.** 1991. Fisiología de la reproducción del macho. En: Avances y perspectivas del conocimiento de los camélidos sudamericanos. Cap. IV. S. Fernández – Baca. FAO. p 111 – 148. Chile.

**Sumar, J.** 1989. Anatomía ultrasónica del aparato genital de la alpaca hembra. En: Resum XII Reunión Cient Anu Asoc Peruana Prod. Anim. Perú. Lima p. 65

**Sumar, J.** 1988a. Removal of the ovaries or ablation of the corpus luteum and its effects on the maintenance of gestation in the alpaca and llama. Act Vet Scand Suppl. 83: 133. En: Resúmenes de las Investigaciones de IVITA en CSA. M. Rojas. Pub. IVITA. N° 25. p: 55.

**Sumar, J.; M. García; V. Alarcón; L. Echevarría.** 1988b. Mecanismo de ovulación en camélidos sudamericanos domésticos. Resum 6ª Conv Int sobre Camélidos Sudamericanos. Bolivia: Oruro. En: Resúmenes de las Investigaciones del IVITA en CSA. Ed. Rojas, M. Publ. IVITA N° 25. p: 55.

**Sumar, J.** 1983. Studies on reproductive pathology in alpacas. Department of Obstetrics and Gynecology of University of Agricultural Sciences Uppsala and IVITA – UNMSM. pp: 21 – 37.

**Tilbrook, A.J.; D.B. Galloway; A.H. Williams; A.J. Clarke.** 1997. Treatment of young rams with an agonist of GnRH delays reproductive development. Hormones and behaviour 27: 5 – 28. En: Memorias: 1°

Symposium Internacional “Avances en Reproducción de Rumiantes”. 17 – 18 de Julio. APPA. FMV – UNMSM. p: 8 – 17

**Vásquez, M.** 2005. Efecto del plasma seminal, separado en base al peso molecular, sobre la inducción de ovulación en llamas (*Lama glama*). Tesis de Médico Veterinario. FMV – UNMSM. 50p

**Vivanco, W.; H. Cárdenas; B. Bindon.** 1985. Relación entre duración de la cópula y momento de la ovulación en alpacas. Convención Internacional sobre Camélidos Sudamericanos del 16 – 21 de junio. Libro de Resúmenes. UNMSM – IVITA y UNSAAC

**Xu, Y.; H. Wang; G. Zeng; G. Jiang; Y. Gao.** 1985. Hormone concentrations before and after semen – induce ovulation in the Bactrian camel (*Camelos bactrianus*). J Reprod Fert. 74: 341 – 346.

**Zhao, X.X.; X.L. Li; B.X. Chen.** 2001. Isolation of ovulation – inducing factors in the seminal plasma of Bactrian camel (*Camelos bactrianus*) by DEAE – cellulose chromatography. Reprod Domestic Anim 36 (3 - 4): 177 – 181.

**Zúñiga, J.** 1958. El celo en las alpacas. Tesis de Bachiller en Medicina Veterinaria. FMV - UNMSM. 15p

## ANEXO

**Valores de la regresión logística aplicada a la ovulación y la vía de administración intramuscular, intrauterina sin curetaje e intrauterina con curetaje de plasma seminal en alpacas hembras**

	<b>OR</b>	<b>IC (95% confianza)</b>	
Administración intrauterina	—	—	—
Administración intrauterina con curetaje	3,33	0,76	14,57
Administración intramuscular	25	2,6	240,31